

Aus der
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

Die Bedeutung des AKT1-Gens in der Schizophrenie

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Florian Beck

aus
München

2016

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Rebecca Schennach

Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter:

PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling, Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 22.07.2016

Meinen Kindern Theodor und Helena gewidmet.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	ZUSAMMENFASSUNG	1
2.	EINLEITUNG	3
2.1	Schizophrenie	3
2.1.1	Definition, historischer Kontext und klinische Manifestation	3
2.1.2	Diagnostik der Schizophrenie	5
2.1.3	Verlauf und Prognose	6
2.1.4	Prävention	8
2.1.5	Therapeutische Ansätze	8
2.1.6	Epidemiologie der Schizophrenie	10
2.1.7	Ätiologie und Pathogenese – die Schizophrenie als multifaktoriell bedingte Erkrankung	10
2.1.8	Genetik der Schizophrenie	11
2.1.8.1	Adoptionsstudien	12
2.1.8.2	Zwillingsstudien	12
2.1.9	Assoziationsstudien und Suszeptilitätsgene	13
2.1.10	Umwelt und Schizophrenie	17
2.1.11	Neuroanatomie der Schizophrenie	18
2.1.12	Neurochemie und Neurobiologie der Schizophrenie	19
2.1.12.1	Die Dopaminhypothese	19
2.1.12.2	Die Serotoninhypothese	21
2.1.12.3	Die Glutamathypothese	21
2.1.13	Endophänotypen	23
2.2	Die AKT-Familie	24
2.2.1	Funktionen von AKT-Kinasen	26
2.2.2	Der AKT-Signalweg und seine Aktivierung	27
2.2.3	AKT und Angiogenese	28
2.2.4	AKT in der Kanzerogenese	29
2.2.5	AKT und das Proteus-Syndrom	31
2.3	AKT1 und Schizophrenie	31
2.3.1	Fetale Hypoxie und AKT1 in der Schizophrenie	34
2.3.2	AKT1-Expression in spezifischen Hirnregionen	35
2.3.2.1	AKT1 im Praefrontalen Kortex	36
2.3.2.2	AKT1 im Hippokampus	37
2.3.4	Medikamentöse Beeinflussung	38
3.	FRAGESTELLUNG	39
4.	MATERIAL UND METHODEN	40
4.1	Voraussetzungen zur Studieneilnahme	40
4.2	Gewinnung der Daten	40
4.3	Studienteilnehmer	41
4.3.1	Kontrollen	41
4.3.2	Erkrankte Studienteilnehmer	42
4.4	Laborverfahren	43
4.4.1	Bezugsquellen der verwendeten Materialien und Geräte	44
4.4.2	Vorbereitung der Blutproben	47
4.4.3	DNA-Extraktion und Konzentrationsbestimmung	47
4.5	Genotypisierung	49
4.5.1	Design des Genotypisierungsassays	50

Inhaltsverzeichnis

4.5.2 Konventionelle Polymerasekettenreaktion.....	50
4.5.3 iPlex-Extensionsreaktion.....	52
4.5.4 Massenspektrometrie.....	53
4.5.5 Qualitätssichernde Maßnahmen	54
4.6 Statistische Auswertung	55
4.6.1 χ^2 -Test.....	55
4.6.2 Definition der verwendeten statistischen und genetischen Grundbegriffe.....	55
5. ERGEBNISSE.....	58
5.1 Prüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts	58
5.2 Analyse des Polymorphismus rs1132975	58
5.3 Analyse des Polymorphismus rs2494732	60
5.4 Analyse des Polymorphismus rs1130233	60
5.5 Analyse des Polymorphismus rs3730358	62
5.6 Analyse des Polymorphismus rs2494743	63
5.7 Analyse des Polymorphismus rs2494746	63
5.8 Überblick über die Signifikanz der Ergebnisse.....	64
6. DISKUSSION	65
6.1 Diskussion der Methodik	65
6.2 Überblick über die Ergebnisse und Interpretation.....	72
6.3 Ausblick	84
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS UND FACHBEGRIFFE	
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	
LITERATURVERZEICHNIS	
DANKSAGUNG.....	
LEBENS LAUF.....	
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....	

1. ZUSAMMENFASSUNG

Als Schizophrenien werden psychische Erkrankungen meist jüngerer Patienten mit intra- wie interindividuell mannigfaltiger Symptomatik bezeichnet. So können alle geistigen Funktionen betroffen, sowie das „Ich“ des Patienten verändert sein.

Positiv- und Negativsymptome prägen das klinische Erscheinungsbild und sind maßgebend für die Einteilung in die diagnostischen Untergruppen des Krankheitsbildes.

Die Diagnose der Schizophrenie wird durch die unterschiedlichen Manifestationsformen erschwert und im Verlauf des Lebens bei einem Prozent der Bevölkerung gestellt. Die Entstehungsmechanismen jedoch sind zum heutigen Zeitpunkt nicht in ihrer Gänze verstanden. Einigkeit besteht weitgehend darin, dass die Schizophrenie multifaktoriell bedingt ist und aus den Wechselwirkungen einzelner Risikofaktoren heraus entsteht. Diese können genetischer Natur sein oder sich aus Umwelteinflüssen zusammensetzen.

Das Ziel großer internationaler Assoziationsstudien ist, Gene inklusive ihrer Variationen zu identifizieren, die in unterschiedlichem Umfang mit der Krankheitsentstehung assoziiert sind. Ein mögliches Suszeptibilitätsgen, das im Mittelpunkt dieser Arbeit steht, ist AKT1 (*V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1*). Es liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 14 und kodiert eine Kinase, die an vielen verschiedenen Stoffwechselwegen im menschlichen Körper beteiligt ist. So beeinflusst AKT1 unter anderem über Insulineffekte und den mTOR-Signalweg Proteinsynthese, Energiestoffwechsel und Wachstum der Zelle. Es unterliegt seinerseits mannigfaltigen Einflüssen von Hormonen, Transmittern und Wachstumsfaktoren. AKT1 wird in Zusammenhang mit einigen physiologischen, aber auch pathologischen Mechanismen gebracht, so zum Beispiel mit der Schizophrenie. Hierfür spricht unter anderem seine Beteiligung an der Regulation von Wachstum, Differenzierung und Apoptose von Zellen, sein wahrscheinlicher Einfluss auf eine normale Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems und auch die in der Literatur erwähnten Neuronveränderungen in präfrontalem Kortex und Hippokampus von Erkrankten.

Im vergangenen Jahrzehnt wurden verschiedene Untersuchungen zu einer möglichen Assoziation von AKT1 und der Schizophrenie durchgeführt, mit unterschiedlichen Ergebnissen. Im Rahmen dieser Dissertation wurden sechs Einzelnukleotidpolymorphismen genauer betrachtet. Die labortechnischen Untersuchungen wurden aus einer Kombination der iPLEX-Methode und der MALDI-TOF-Massenspektrometrie durchgeführt. Die molekulargenetischen Analyseergebnisse von 513 erkrankten Patienten wurden mit denen 1386 gesunder Testpersonen aus einem Kontrollkollektiv verglichen. Die Kollektive

1 Zusammenfassung

beinhalteten männliche und weibliche Probanden zwischen 18 und 79 Jahren. Bei vier von sechs untersuchten Markern (rs2494732, rs3730358, rs2494743, rs2494746) konnte keine signifikante Assoziation mit der Schizophrenieentstehung festgestellt werden. Diese waren alle im Bereich von nicht kodierenden Genregionen, das heißt Introns, lokalisiert. Darüber hinaus zeigten die statistischen Auswertungen jedoch eine Signifikanz in der Allelverteilung für den Marker rs1130233 und einen Trend in Richtung eines signifikant höheren Vorkommens eines homozygoten Genotyps für SNP rs1132975. SNP rs1130233 liegt auf Exon neun, SNP rs1132975 in der 3' Genregion von AKT1.

Im Gesamtzusammenhang liefern die vorliegenden Ergebnisse in Kombination mit den vielfältigen Literaturangaben Hinweise auf eine Beteiligung einzelner Polymorphismen im AKT1-Gen an der Schizophrenieentstehung. Da jedoch Unterschiede abhängig von den untersuchten Populationen und die vermuteten Einflüsse geringen Umfangs und nur Einzelaspekte eines großen Ganzen zu sein scheinen, sind weiterhin umfangreiche international ausgerichtete Studien und Metaanalysen Voraussetzung für eine definitive Einordnung von AKT1-Polymorphismen in den Kontext der Schizophrenieentstehung. Darüber hinaus ist die Untersuchung von Wechselwirkungen mit anderen Genen und andersgearteten Einflussfaktoren wichtig. Von Interesse sind unter anderem SNPs, die in unmittelbarer Nähe bereits als signifikant detektierter Marker auf AKT1 oder benachbarten Genen gelegen sind.

2. EINLEITUNG

2.1 Schizophrenie

2.1.1 Definition, historischer Kontext und klinische Manifestation

Die Schizophrenie ist ein chronisches Krankheitsbild, das grundlegende Veränderungen in der Wahrnehmung, gestörte Denkprozesse, Wahn, Halluzinationen und eine verringerte Sozialkompetenz bedingt. Über eine komplexe vielseitige Symptomatik führt sie zu einem Verlust von geistigen Funktionen und massiven Beeinträchtigungen von Betroffenen und deren Umgebung. Die Erkrankten können ihre Autonomie und Individualität verlieren. Darüber hinaus hat diese Krankheitsentität auch volkswirtschaftlich und gesellschaftspolitische Bedeutung, dahingehend, dass sie zu steigenden Gesundheitskosten und damit auch zu einer Beeinflussung der Allgemeinbevölkerung führt. (Andreasen, 1999, Bayer et al., 1999, Gaebel und Wölwer, 2010, Giegling et al., 2008, Rössler et al., 2005)

Die durch schizophrene Erkrankungen pro Jahr in Deutschland verursachten Aufwendungen übersteigen die für andere psychische Erkrankungen. Sie betragen 4% der Gesundheitsleistungen, das sind 4,4 bis 9,2 Milliarden Euro und setzen sich aus direkten und indirekten Kosten zusammen. (Andlin-Sobocki et al., 2005, Dilling et al., 2005, Gaebel und Wölwer, 2010, Kissling et al., 1999, Murray und Lopez, 1996)

Schizophrene Symptome als Charakteristika psychischer Morbidität sind kein neues Phänomen. Krankheitsbilder, die vergleichbar mit dem der Schizophrenie sind, waren schon in der Antike bekannt. Seinerzeit wurden diese sogenannten „seltsamen Verhalten“ unter anderem als Teufelsbesessenheit fehlgedeutet (Kyziridis, 2005).

Der Begriff der *Dementia praecox* (vorzeitige Demenz) wurde durch Benedict Morel (1809-1873) im Jahre 1860 eingeführt. Er beschrieb damit die Erkrankung eines jungen Mannes, der aus scheinbar absoluter Gesundheit ein Krankheitsbild entwickelte, das in seinen Augen der Demenz ähnelte. Die Bezeichnung Schizophrenie beziehungsweise Gruppe der Schizophrenien wurde im Jahr 1908 durch Paul Eugen Bleuler (1857-1939) eingeführt. Hiermit ersetzte er den Begriff *Dementia praecox* und damit das Konzept Kraepelins (1856-1926). (Bleuler, 1911, Fusar-Poli und Politi, 2008, Hoff, 2012, Kyziridis, 2005)

Als Begründung für die Umbenennung in Schizophrenie (griechisch *schizein* für abspalten und *phren* für Seele) nannte Bleuler, dass weder eine Demenz im ursprünglichen Sinn noch ein verfrühtes Auftreten in der Adoleszenz obligat seien. Er sah die Aufspaltung beziehungsweise den Verfall seelischer Funktionen als das herausragende Symptom des

2 Einleitung

gesamten Krankheitsbildes an. (Bleuler, 1908, Fusar-Poli und Politi, 2008, Kuhn, 2004)
Theoretisch grundlegend für den Standpunkt Bleulers zur Schizophrenie werden drei Autoren genannt, Johann Friedrich Herbart (1776-1841), Emil Kraepelin (1856-1926) und Sigmund Freud (1856-1939) (Hoff, 2012).

Tabelle 1: Einteilungsmöglichkeiten der schizophrenen Symptomatik

Grundsymptome (Bleuler)	Akzessorische Symptome „Ich-Störung“
<ul style="list-style-type: none">• Formale Denkstörungen: z.B. Gedankenabreißen, Denkdissoziation• Affektivitätsstörungen: z.B. Parathymie, Autismus, Ambivalenz	<ul style="list-style-type: none">• Halluzination: v.a. akkustisch, taktil• Wahn: z.B. Fremdbeeinflussung• Katatonie: z.B. katatoner Stupor
Positivsymptome	Negativsymptome
<ul style="list-style-type: none">• Halluzination• Wahn• Psychomotorische Manifestationen• Formale Denkstörungen	<ul style="list-style-type: none">• Sprachverarmung• Affektarmut• Anhedonie• Sozialer Rückzug/Autismus• Verlangsamtes Denken
Symptome ersten Ranges (Schneider)	Symptome zweiten Ranges
<ul style="list-style-type: none">• Dialogische kommentierende Stimmen• Gedankenentzug, Gedankenlautwerden• Wahnwahrnehmung	<ul style="list-style-type: none">• Halluzinationen• Störungen von Denken und Affekt• Psychomotorik

(modifiziert nach Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011, Hoff, 2012, Stotz-Ingenlath, 2000)

Kurt Schneider (1887-1967) steht für die Untergliederung schizophrener Symptome in solche ersten und zweiten Ranges. Als erstrangige (Grund-)Symptome, die das Krankheitsbild definieren, werden unter anderem das Lautwerden von Gedanken oder kommentierende Stimmen, als zweitrangige, akzessorische Symptome Wahneinfälle und mit der Psychose assoziierte Verstimmungen bezeichnet. Darüber hinaus ist heute die Einteilung in produktive Positivsymptome wie Halluzination und Wahn und negative Symptome wie Affektverflachung und sozialer Rückzug gebräuchlich. Als Hauptsymptome der Schizophrenie gelten beispielsweise Ambivalenz, Störung der Affektivität und Assoziationsverlust. Die Symptomenkonstellation sowie ihr Ausprägungsgrad unterscheiden sich zwischen den Erkrankten und den jeweiligen Krankheitsphasen. (Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011, Hoff, 2012, Stotz-Ingenlath, 2000) (s. Tab.1)

2 Einleitung

Die Schizophrenie zeigt eine hohe Variabilität in ihrem klinischen Erscheinungsbild. So sind verschiedene Formen und Mischvarianten möglich. Alle psychischen Funktionen und Teilbereiche können betroffen sein, es kommt zu einer Störung des Ich, der gesamten Person und Persönlichkeit. (Tölle und Lempp, 1999)

In einem Drittel der Fälle werden Vorboten, sogenannte *Prodromi*, im Sinne einer Wahnstimmung und unspezifischer psychischer Veränderungen beschrieben, die der tatsächlichen Manifestation vorangehen. Relativ hochfrequent werden von den Betroffenen auch Konzentrationsstörungen und depressive Stimmungslagen genannt, soziale Kontakte und Leistungsfähigkeit nehmen ab. (Ebert und Loew, 2008, Hafner et al., 1995, Marneros et al., 1991)

In der Mehrzahl der Fälle stellt sich die Schizophrenie als eine Erkrankung des Adoleszenten dar und tritt häufig bereits vor Beginn der vierten Lebensdekade in Erscheinung (Gaebel und Wölwer, 2010).

Die Einteilung heute erfolgt in der Regel nach ICD-10 (*International Classification of Diseases*, Internationale Klassifikation der Krankheiten zu psychischen Störungen der WHO, 10. Revision) (s. Tab. 2) und DSM-IV (Diagnostisches und Statistisches Manual psychischer Störungen (Bäuml et al., 2002, Dilling et al., 2005, Möller et al., 2009, Sass et al. 2003).

2.1.2 Diagnostik der Schizophrenie

Die definitive Diagnose der Schizophrenie wird in der Zusammenschau von Anamnese und Beurteilung im Krankheitsverlauf, klinischer Untersuchung, apparativer Diagnostik sowie neuropsychologischer Testung gestellt (Gleixner et al., 2011). Die neuropsychologische Testung wird unter anderem mit der PANSS (*Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia*; ein Testverfahren, das anhand einer Skala Plus- und Minussymptome der Schizophrenie abfragt und beurteilt) durchgeführt (Kay et al., 1987).

Die Diagnosestellung wird über nationale und internationale Klassifikationssysteme standardisiert, in denen psychische Krankheiten als von der Norm abweichende Auffälligkeiten gesehen werden. Diese Systeme geben Auskunft über Klinik und Diagnose. ICD-10 und DSM-IV unterscheiden sich zum Beispiel in der Dauer der geforderten Symptompersistenz. Die ICD-10 geht von einer Minstdauer von vier Wochen, das DSM-IV von sechs Monaten aus. (Dilling et al., 2005, American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2000; WHO ICD-10, 1991, Sass et al. 2003)

2 Einleitung

Die verschiedenen Prägnanztypen korrelieren teils mit dem Erkrankungsalter. So werden Erstmanifestationen der hebephrenen Form etwa zehn Jahre vor denen der paranoid-halluzinatorischen Form beschrieben (Gaebel und Wölwer, 2010).

Tabelle 2: Einteilung der Schizophrenie nach ICD-10

Schizophrene Spektrumstörungen		Sonderformen der Schizophrenie		Akute Formen der Schizophrenie	
F21	Schizotype Störung	F20.4	Postschizophrene Depression	F20.0	Paranoid-halluzinatorisch
F22	Anhaltende wahnhafte Störung	F20.5	Schizophrenes Residuum	F20.2	Kataton
F23	Vorübergehende akute psychotische Störung	F20.6	Schizophrenia simplex	F20.8	Zönästhetisch
		F25	Schizoaffektive Erkrankungen	F20.1	Hebephren
				F20.3	Undifferenziert

(modifiziert nach Ebert und Loew, 2008, Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011)

Im DSM-IV werden fünf Gruppen differenziert: neben paranoider, undifferenzierter und katatoner Form werden hier der desorganisierte und der residuale Typus deklariert. Mit über der Hälfte der Fälle ist die paranoid-halluzinatorische Form der akuten Schizophrenie besonders hervorzuheben. Voraussetzung, um die Diagnose der Schizophrenie zu stellen, ist, dass wenigstens zwei Symptome aus der Gruppe Halluzination, Wahnvorstellung, desorganisiertes Sprechen oder Verhalten, Katatonie oder Negativsymptome oder zumindest ein Symptom aus dem Bereich dialogischer Stimmen oder bizarrer Wahnvorstellungen über mindestens einen Monat akut klinisch persistieren. Das ausschließliche Bestehen von Negativsymptomen genügt nur in der Prodromal- und Nachphase. Ein weiteres Kennzeichen einer akuten Erkrankung ist eine deutliche Verschlechterung in einem Bereich wie zum Beispiel dem sozialen Rückzug. (American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2000, Gaebel und Wölwer, 2010, Wittchen et al., 1996) (s. Tab. 2)

2.1.3 Verlauf und Prognose

Der Krankheitsverlauf der Schizophrenie ist sehr heterogen. Es sind akute wie auch chronische, schleichende Verläufe möglich. Beim Versuch das Krankheitsbild einzuteilen, hat sich eine Dreiteilung bewährt. So zeigen über zwei Drittel der Betroffenen vorwiegend Negativsymptome, ein Zehntel primär Positivsymptome und ein Fünftel ein Mischbild. (Comer, 2001, Maurer, 1995)

2 Einleitung

Die ICD-10 unterscheidet kontinuierliche Verlaufsformen, episodische mit Residuum (vollständig oder unvollständig), episodisch wiederkehrende und Remissionen (s. Tab. 2).

Da sich die Prodromalphase wie auch die tatsächliche Krankheitmanifestation interindividuell stark unterscheiden, ist die Diagnose schwierig und wird häufig erst verzögert gestellt, durchschnittlich ein bis vier Jahre nach psychotischem Symptombeginn und Jahre bis Jahrzehnte nach dem Beginn unspezifischer Symptome. Diese Latenz zwischen tatsächlichem Krankheitsbeginn und Behandlungsbeginn kann negative Folgen bezogen auf die Behandelbarkeit und damit die Prognose allgemein nach sich ziehen. (Tandon et al., 2009)

Die während der Erkrankung zunehmenden Einschränkungen gehen häufig mit einem sozialen wie gesellschaftlichen Abstieg einher (Hafner et al., 1995). So verglichen Vargas et al. (2014) an Schizophrenie erkrankte Personen in Bezug auf ihr Bildung und ihren sozialen Hintergrund und bestätigten eine berufliche Verschlechterung, die möglicherweise schon im Vorfeld des Krankheitsausbruchs ihren Ursprung hat.

Schwierigkeiten im Krankheitsverlauf sind auch die möglichen Residuen und Rezidive. Fast die Hälfte der Patienten zeigt eine Restsymptomatik, die zwischen den Episoden teils progredient ist (Bäumel et al., 2002, Gaebel und Wölwer, 2010).

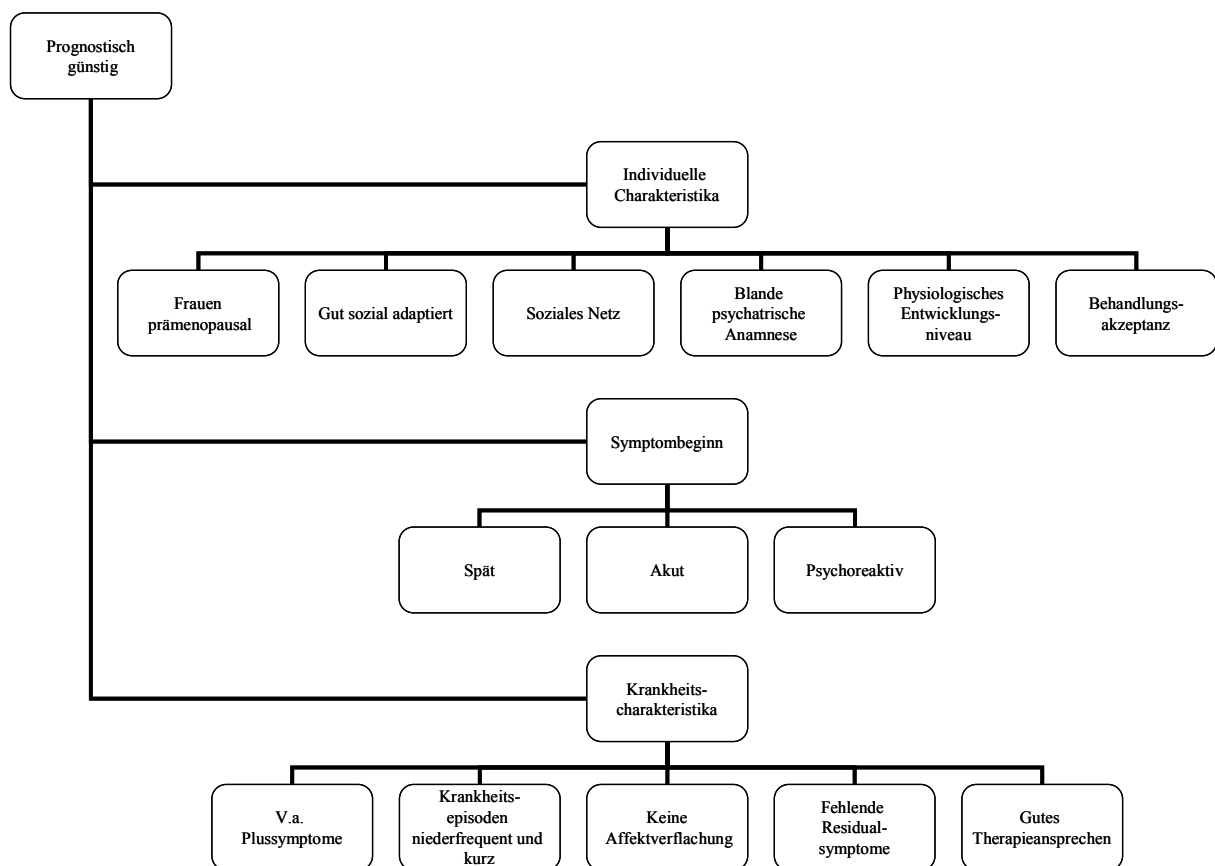


Abbildung 1: Faktoren die sich auf die Langzeitprognose statistisch günstig auswirken (modifiziert nach Ebert und Loew, 2008, Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011)

2 Einleitung

Eine Abschätzung der Prognose wird aufgrund der Heterogenität des Krankheitsbildes erschwert. Es gibt jedoch Faktoren, die in der statistischen Auswertung für beziehungsweise gegen eine gute Prognose sprechen. (s.Abb. 1)

Ein Problem im Krankheitsverlauf stellen Eigen- und Fremdgefährdung und psychische Komorbiditäten wie Sucht dar. Die Suizidrate unter Schizophreniekranken liegt bei etwa 10%. (Ebert und Loew, 2008, Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011)

2.1.4 Prävention

Aufgrund der oben beschriebenen Mannigfaltigkeit der Krankheit sind breit gefächerte jedoch spezifische Präventionsmaßnahmen schwierig durchzuführen. Im Vorfeld einer zielführenden Vorbeugung müssen einerseits mögliche kausale Risikofaktoren, andererseits Risikomarker erläutert werden. Allgemeine großflächige Maßnahmen zur Primärprävention sind Verbesserungen in der Pränatalversorgung, Vermeidung von Mangelernährung und die Durchführung von Impfungen. (Compton, 2004)

Eine Möglichkeit der Sekundärprävention besteht in der Detektion von überdurchschnittlich gefährdeten Personengruppen. So sind mit Hinblick auf ein Zusammenwirken genetischer wie umweltbezogener Faktoren Studien diesbezüglich denkbar.

Zum Beispiel wurde der Effekt einer prophylaktischen, antipsychotischen Medikation bei gesunden erstgradig Verwandten von Schizophrenieerkrankten untersucht und ihr Einfluss auf unterschwellige Symptome bewertet. Durch diese Maßnahme in einer prämorbid Phase war es teils möglich Negativsymptome zu reduzieren. (Gulotta und Bloom, 2003, Tsuang et al., 2000)

2.1.5 Therapeutische Ansätze

Die Effektivität einer Schizophreniebehandlung ist abhängig von einem möglichst frühzeitigen Beginn, das heißt im Idealfall sollte die Therapie zu Beginn der Krankheit, eventuell auch schon bei Diagnose der Prodromalphase, gestartet werden, um eine Chronifizierung zu vermeiden. Unterschieden wird zwischen der stationären Akutbehandlung bei starken Positivsymptomen beziehungsweise Selbst- und Fremdgefährdung und der postakuten Stabilisierungsphase wie der Remissionsphase im Rahmen der Langzeittherapie einer chronischen Schizophrenie. So liegt im akuten Krankheitsstadium das Hauptaugenmerk darauf, die Symptomatik zu reduzieren und den Patienten wie seine Umgebung zu schützen. Bei Bedarf ist eine Unterbringung des Erkrankten, auch gegen seinen Willen, in einer psychiatrischen Einrichtung möglich. (Gaebel und Wölwer, 2010, Steinert und Kallert, 2006)

2 Einleitung

Der Behandlungsansatz der Schizophrenie ist multimodal, die einzelnen Therapeutika werden in Gewichtung und Umfang individuell kombiniert. Die Hauptpfeiler der individualisierten Therapie stellen Psychotherapie, medikamentöse Einstellung und Soziotherapie dar (Ebert und Loew, 2008, Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011).

An Medikamenten stehen typische und atypische Neuroleptika zur Verfügung, die abhängig von der vorherrschenden Symptomatik auf unterschiedliche Art eingesetzt werden (s. Tab. 3).

Tabelle 3: Gegenüberstellung der in der Schizophreniebehandlung angewandten Neuroleptikaarten

Antipsychotikum/Neuroleptikum	Typisch, 1. Generation	Atypisch, 2. Generation
Wirkmechanismus	Hemmung v.a. des D2-Rezeptors	Hochaffin zu 5-HT ₂ -Rezeptoren Bei höherer Dosierung: ebenfalls Hemmung der D2-Rezeptoren
Wirkung	Sedierung bei Erregung Wirkung v.a. auf Plusssymptomatik	Vergleichbare Wirksamkeit + bessere Wirksamkeit bezüglich Minussymptomatik und Depression + Verbesserung kognitiver Funktionen
Nebenwirkung	EPS dosis- und substanzabhängig bei bis zu 50%; Frauen>Männer	EPS substanz- und dosisabhängig bei maximal 20% Weitere NW: metabolisches Syndrom, Auswirkungen auf Herzkreislaufsystem, sexuelle Funktionsstörungen
Unterteilung/Beispiele	<u>Hochpotent:</u> kaum Sedierung, stark antipsychotisch wirksam, häufig EPS; Fluphenazin, Benperidol, Haloperidol <u>Niedrigpotent:</u> Hauptwirkung Sedierung, wenig antipsychotisch, wenig EPS; Chlorprothixen, Melperon	Clozapin, Olanzapin, Risperidon

NW: Nebenwirkungen, EPS: extrapyramidalmotorische NW

(modifiziert nach Canuso und Pandina, 2007, Herdegen, 2008, Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011)

Jedoch zeigt sich unter anderem aus Gründen der *Compliance* bei bis zu einem Drittel der behandelten Patienten ein unzureichendes Ansprechen auf die Medikamente. (Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011)

Im Gegensatz zu früheren Therapieprinzipien steht heute nicht mehr nur die größtmögliche Symptombefreiheit im Vordergrund, sondern der Versuch, dem Betroffenen ein weitgehend selbstbestimmtes Leben zu ermöglichen und Abhängigkeit zu vermeiden. Ein Schwerpunkt wird diesbezüglich auch auf die (Wieder-)Erlangung sozialer und beruflicher Leistungsfähigkeit gelegt. (Gaebel und Wölwer, 2010)

2.1.6 Epidemiologie der Schizophrenie

Die Schizophrenie betrifft etwa sieben von tausend Erwachsenen mit einer Erstmanifestation vorwiegend in der Adoleszenz zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr. Trotz der relativ niedrigen Inzidenz von 15/100.000 ist die Prävalenz mit 4,5/1.000 und 24 Millionen Betroffenen weltweit, bedingt durch den chronischen Verlauf der Krankheit hoch. Das Lebenszeitrisiko beträgt durchschnittlich 0,7%. (Tandon et al., 2008a, WHO, 2013)

In Untersuchungen wurden Unterschiede zwischen den westlichen Industrienationen und Entwicklungsländern beschrieben. Eine signifikant bessere Prognose scheint dabei in den Entwicklungsländern zu bestehen. Die genaue Ursache hierfür ist ungeklärt, jedoch könnten Wechselwirkungen zwischen Genetik und spezifischen Umweltaspekten eine Rolle spielen. (Jablensky, 2000)

2.1.7 Ätiologie und Pathogenese – die Schizophrenie als multifaktoriell bedingte Erkrankung

Die Schizophrenie stellt eine multifaktorielle Erkrankung dar. Dies beinhaltet genetische wie umweltgebundene Faktoren, aber auch anatomische, biochemische und infektiöse Ursachen werden diskutiert. In jedem Fall ist es nötig bei ätiopathogenetischen Überlegungen verschiedene Einflüsse in ihrem Zusammenhang zu betrachten, da die isolierte Betrachtungsweise einzelner Aspekte nicht zielführend scheint (Tsuang et al., 2004).

So wird durch genetische Faktoren zu 80% der Erkrankungsfälle beigetragen (Tandon et al., 2008a). Vermehrt wird die Schizophrenie in Studien als eine subtile Störung von Entwicklung und Plastizität des Gehirns beschrieben (Ross et al., 2006).

Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung zur vermuteten Ätiopathogenese der Schizophrenie. Liegt bei einer Person eine entsprechende Disposition und Anfälligkeit vor, kann es durch mannigfaltige Auslöser zu einer Manifestation der Psychose kommen.

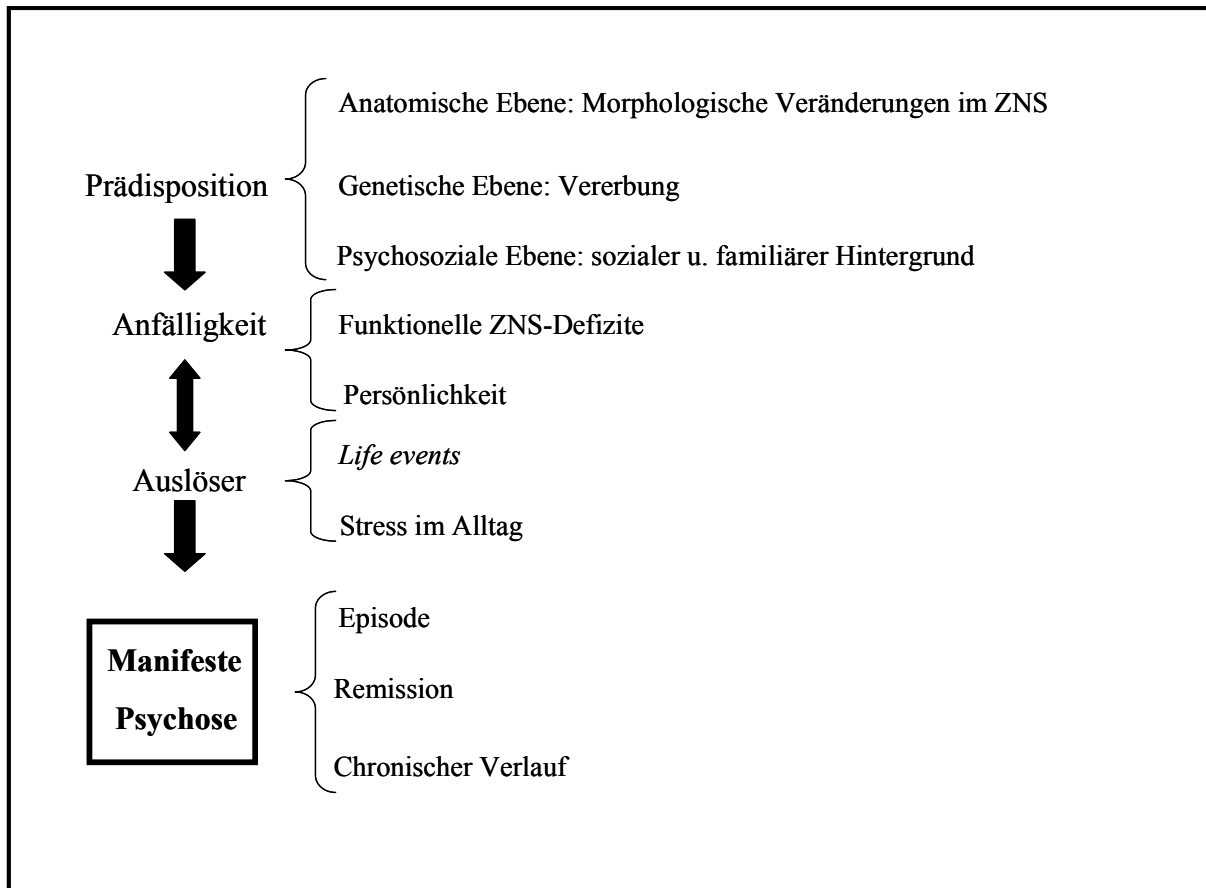


Abbildung 2: Darstellung zu ätiopathogenetischen Vorstellungen der Schizophrenie (modifiziert nach Gaebel und Wölwer, 2010, Gleixner et al., 2011, Möller, 2005a, Möller et al., 2009, Scharfetter, 1995)

2.1.8 Genetik der Schizophrenie

Über zwei Drittel der Neuerkrankungen sind sporadisch, dennoch ist eine familiäre Häufung der schizophrenen Erkrankung bekannt (Kallmann, 1946). Das Risiko steigt mit dem Verwandtschaftsgrad und beträgt für erstgradige Verwandte eines schizophrenen Patienten 5-15% und sinkt auf 2-6% bei zweitgradig Verwandten (Gottesman und Wolfgram, 1991, Kendler et al., 1993, Kendler und Gardner, 1997, Tandon et al., 2008b) (s. Tab. 4).

Auch verschiedenen Genen wird eine Verbindung zum Risiko eine Schizophrenie zu entwickeln zugeschrieben, es ist jedoch keine spezifische Variation bekannt, die ein „Schizophrenie-Gen“ definiert (Tandon et al., 2008a).

Im Gegensatz zur Erkrankungswahrscheinlichkeit selbst korrelieren und kumulieren klinische Subtypen nicht innerfamiliär, wobei sich im Allgemeinen eine psychiatrische Anamnese familiär gehäuft nachweisen lässt. In der Literatur ist beispielsweise beschrieben, dass Erkrankte mit vorwiegender und langandauernder Negativsymptomatik überdurchschnittlich

2 Einleitung

häufig Verwandte mit psychischen Störungen aufwiesen. (Kendler und Diel, 1993, Kendler und Gardner, 1997, Kendler et al., 1995, Van Os et al., 1997)

Tabelle 4: Aufschlüsselung des Erkrankungsrisikos für Schizophrenie, Einfluss durch den Verwandtschaftsgrad

Verwandtschaftsverhältnis	Erkrankungsrisiko
Zwillinge	Eineiig 48% Zweieiig 17%
Geschwister	9%
Halbgeschwister	6%
Kinder	13%
Eltern	6%
Enkel	5%
Gesamtbevölkerung	1%

(modifiziert nach Gottesman und Wolfgram, 1991, Gottesman et al, 1987, Sullivan et al., 2003)

2.1.8.1 Adoptionsstudien

Weil im Rahmen von Familienstudien keine genaue Differenzierung zwischen dem Anteil genetischer Faktoren und Umwelteinflüssen möglich ist, sind Adoptionsstudien eine gute Möglichkeit den Einfluss erblich bedingter Faktoren unter verschiedenen Umgebungseinflüssen zu untersuchen. In der Vergangenheit wurden einige dieser Studien durchgeführt, in denen einerseits das Risiko von Kindern an Schizophrenie erkrankter Eltern, die in gesunde Familien adoptiert worden waren, untersucht wurde. Umgekehrt wurden auch die Kinder mit schizophreniekranken Adoptiveltern untersucht. Hierbei konnte gezeigt werden, dass ein erhöhtes Risiko nur für leibliche Kinder Erkrankter bestand, dass also die familiäre Übertragung des Schizophrenierisikos eher über genetische und nicht über Adoptivbeziehungen vermittelt wird. (Heston, 1966, Kety et al., 1971, 1975, 1976, Tandon et al., 2008a, Tsuang und Faraone, 1995)

Diese Ergebnisse sprechen für ein Überwiegen genetischer Komponenten.

2.1.8.2 Zwillingsstudien

Ebenso für eine Bedeutung genetischer Faktoren sprechen die Ergebnisse aus in der Vergangenheit durchgeführten Zwillingsstudien. Bei eineiigen Zwillingen, die die gleiche genetische Ausstattung haben, war bei einem betroffenen Geschwister in etwa 50% der Fälle auch der zweite Zwilling betroffen, sie hatten also im Vergleich zu etwa 15%

2 Einleitung

Erkrankungswahrscheinlichkeit bei zweieiigen Zwillingspaaren, die in der Hälfte ihres genetischen Materials übereinstimmen, ein dreifach erhöhtes Risiko zu erkranken (Gottesman et al., 1987, Sullivan et al., 2003, Tandon et al., 2008a). Interessant hierbei ist jedoch, dass nicht allein der genetische Hintergrund für eine Krankheitsmanifestation verantwortlich gemacht werden kann, sondern nur eine Konkordanz von 50% zu bedingen vermag.

Zusammenfassend ergaben diese Studien, dass eine Anfälligkeit für Schizophrenie erblich bedingt ist und im Zusammenwirken mit Umweltfaktoren zu einem Großteil der Erkrankungen beiträgt (Cannon et al., 1998, Cardno et al., 1999, Sullivan et al., 2003).

In weiterführenden Analysen konnte gezeigt werden, dass kein reproduzierbarer Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter und einem erhöhten Risiko für Schizophrenie oder andere psychische Krankheiten bei Verwandten bestand. Bei betroffenen Geschwisterpaaren zeigte sich nur eine mäßige Übereinstimmung im Erstmanifestationsalter, wohingegen die diesbezügliche Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen deutlich höher lag. Diese Ergebnisse wurden dahingehend interpretiert, dass es keinen Unterschied in der Vererbung der Früh- und Spätform schizophrener Erkrankungen zu geben scheint. (Kendler et al. 1987)

2.1.9 Assoziationsstudien und Suszeptilitätsgene

Koppelungsanalysen und Assoziationsstudien stellen einen Versuch dar, mit der Schizophrenie assoziierte Gene ausfindig zu machen. Das durchschnittliche relative Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, wird mit etwa eins beziffert (Allen et al., 2008, Tandon et al., 2008a).

In Kopplungsstudien wurden Veränderungen (beispielsweise Deletionen, Translokationen) für autosomale Bereiche, wie 1q, 2q, 3p, 3q, 4q, 5q, 6q, 8p, 10p, 10q, 11q, 13q, 14p und 22q, aber auch für gonosomale Regionen (x-chromosomal) beschrieben, die im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko zu erkranken stehen (Badner und Gershon, 2002, Blackwood et al. 2001, DeLisi et al., 1994, Gurling et al., 2001, Levinson et al., 2011, Lewis et al., 2003, MacIntyre et al., 2003, Mowry et al., 2004, Ng et al., 2009, Tandon et al., 2008a, Wang et al. 1993, Williams et al., 2006).

Assoziationsstudien prüfen den Zusammenhang zwischen genetischen Varianten und dem Risiko zu erkranken und sind geeignet, auch Gene mit einem relativ geringen Effekt ausfindig zu machen. Hierzu werden die Frequenzen von Variationen in verschiedenen Gensequenzen zwischen Erkrankten und Gesunden verglichen, um zu beschreiben, welche Veränderungen

2 Einleitung

wahrscheinlich eine Krankheitsempfänglichkeit bedingen. (Alkelai et al., 2011, Hunter und Kraft, 2007, Tandon et al., 2008a)

In bisherigen Untersuchungen zeigten sich Hinweise auf eine Beteiligung einiger Gene beziehungsweise chromosomaler Regionen. Möglich sind hier Varianten in der Kopienanzahl (CNV, *Copy Number Variants*), zum Beispiel Deletionen und Duplikationen. So scheinen einige dieser Veränderungen der chromosomalen Morphologie in Zusammenhang mit der Psychose zu stehen. (Walsh et al., 2008)

Einerseits tragen verbreitete Abweichungen, andererseits und in beträchtlicherem Maße seltene Variationen großer CNVs (>500kb) zur Schizophrenieentstehung bei (Pocklington et al., 2015, Rees et al., 2014).

Pocklington et al. (2015) zeigten auf, dass es CNVs gibt, die in Genen Erkrankter häufiger vorkommen, die an der hemmenden GABAergen und der erregenden glutamatergen Neurotransmission beteiligt sind. Eine Störung im Rahmen dieser Signalgebung scheint in einem kausalen Zusammenhang mit der Schizophrenie zu stehen (Pocklington et al., 2015).

Kirov et al. (2012) beschrieben, dass CNVs, die in Verbindung mit dieser Erkrankung stehen, in Zusammenhang mit synaptischen Proteinen gebracht werden. Eine Anhäufung von Genen im NMDAR (*N-Methyl-D-Aspartate Receptor*)-Netzwerk und ARC (*Neuronal Activity Regulated Cytoskeleton-Associated*) hat Bedeutung für die synaptische Plastizität. (Husi et al., 2000, Husi und Grant, 2001, Kirov et al., 2012, Pocklington et al., 2006, Pocklington et al., 2015)

In einer Untersuchung von Levinson et al. 2011 wurden verschiedene CNVs analysiert. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Schizophrenie und Deletionen von Sequenzabschnitten der Chromosomen 1q21.1, 15q13.3, 22q11.21 und Duplikationen auf 16p11.2 aufgezeigt werden. Exonbetreffende Deletionen im NRXN1 (Neurexin 1) scheinen mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert (Levinson et al., 2011, Kirov et al., 2009, Rees et al., 2014, Rujescu et al., 2009).

An Schizophrenie erkrankte Personen mit krankheitsassoziierten CNVs, haben im Sinne eines polygenetischen Schwellenmodells zusätzlich eine größere Veranlagung von Seiten allgemeiner Risikoallele für die Entstehung der Erkrankung (Tansey et al., 2015)

Im Gegensatz zu Assoziationsuntersuchungen zwischen CNVs und Schizophrenie, die aufgrund ihrer Seltenheit nur in einem geringen Prozentsatz der Erkrankten Hinweise auf kausale Zusammenhänge zur Pathophysiologie geben können, beruht die Untersuchung der Assoziation von SNPs auf der Annahme einer Beteiligung vieler Gene beziehungsweise

2 Einleitung

Variationen mit geringen Effekten. Dabei sind hypothesenfreie genomweite Assoziationsstudien (GWAS) und Kandidatengenstudien einander ergänzende Ansätze.

Im Anschluss an Fallkontrollstudien wird abgeschätzt, ob das entsprechende Genprodukt im Nervensystem exprimiert wird, welche Funktion es gegebenenfalls dort erfüllt, und, ob ein Zusammenhang zur Pathophysiologie des untersuchten Krankheitsbildes plausibel erscheint. So wurden in den vergangenen Jahren einige genetische Assoziationen für die Ausbildung einer schizophrenen Erkrankung beschrieben. (Allen et al., 2008, Becker et al., 2004, Gogos und Gerber, 2006, Lin et al., 2006, Owen et al., 2005, Straub und Weinberger, 2006, Tandon et al., 2008a)

Neurobiologische Daten zeigen eine Verbindung einiger Gene zu pathophysiologischen Prozessen auf, die relevant für die Schizophrenie zu sein scheinen (Harrison und Weinberger, 2005, Lang et al., 2007, Law et al., 2006, O'Tuathaigh et al., 2007, Talkowski et al., 2008, Tandon et al., 2008a).

Einige Gene aus Kandidatengenstudien, die sich aktuell im Fokus der Forschung zur Ätiopathogenese der Schizophrenie befinden, sind diejenigen für Neuroregulin 1, Dysbindin, die Dopaminrezeptoren 1-4, die Catechol-O-Methyltransferase, DISC 1 (*Disrupted In Schizophrenia*) und der metabotrope Glutamatrezeptor (Chubb et al., 2008, Duan et al., 2007, Hanninen et al., 2008, Lewandowski, 2007, Li und He, 2007, Munafo et al., 2008, Nicodemus et al., 2007, Schwab et al., 2008, Talkowski et al., 2008, Tandon et al., 2008a, Tandon et al., 2008b, Tan et al., 2007) (s. Abb. 3).

Die PGC (*Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics*) bestätigte 2014 in einer genomweiten Assoziationsstudie mit 36.989 Fällen und 113.075 Kontrollen DRD2 als Kandidatengen (PGC, 2014).

Chen et al. zeigten 2011 anhand einer GWA-Studie eine Rolle von CMYA5 (*Cardiomyopathy-Associated 5*) in der Schizophrenieentstehung. In einer GWA-Studie von Ripke et al. (2013) wurden CACNA1C (*Calcium Channel Voltage-Dependent L Type Alpha 1C Subunit*) und CACNB2 (*Calcium Channel Voltage-Dependent Beta 2 Subunit*)-Variationen als signifikant für die Pathogenese der Schizophrenie eingestuft (Ripke et al., 2013).

Für das Zinkfingerprotein ZNF804A (*Zinc Finger Protein 804A*) wurde ebenfalls ein Zusammenhang mit der Schizophrenieentstehung beschrieben (O'Donovan et al., 2008, Stefanis et al., 2013, Walters et al., 2010).

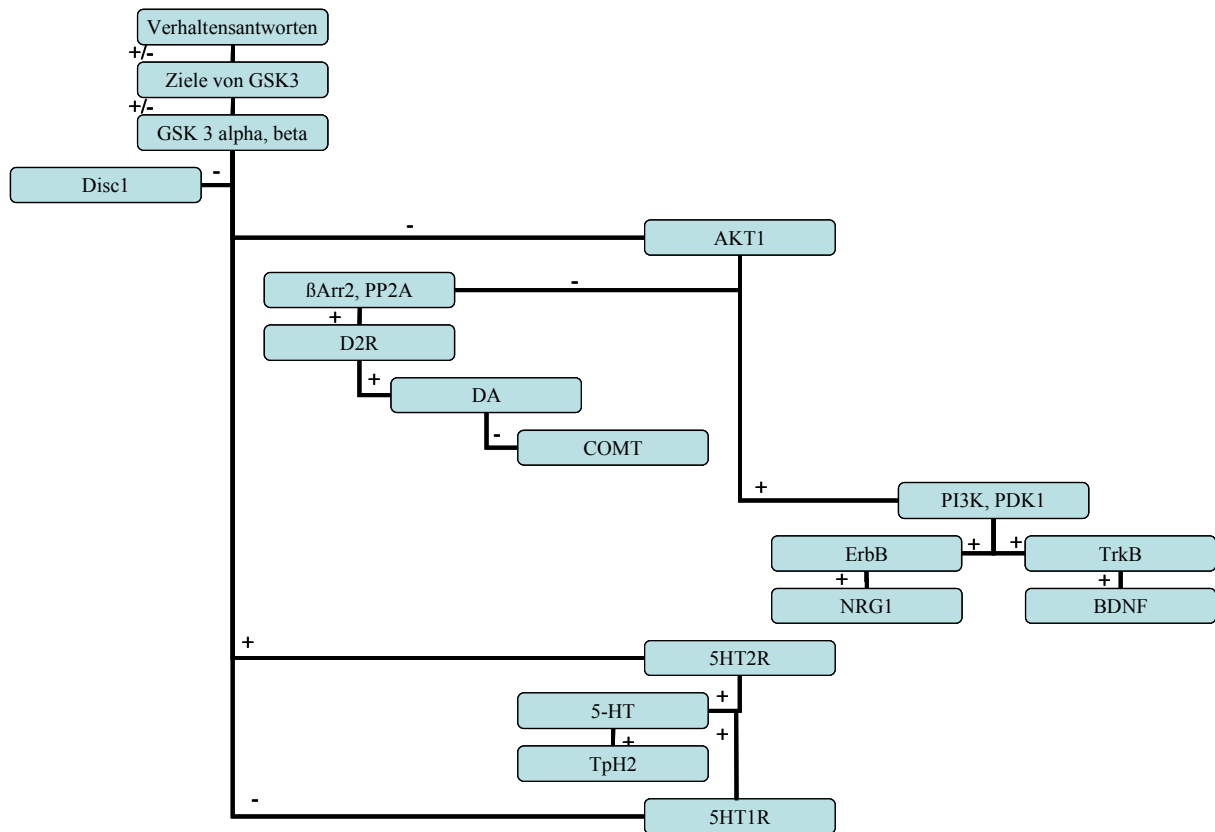


Abbildung 3: schematische Darstellung einzelner Gene, die mit einem erhöhten Risiko an Schizophrenie zu erkranken in Verbindung gebracht werden, inklusive ihrer Einbindung in wichtige Signalwege. Die medikamentöse Therapie greift an unterschiedlichen Stellen in diese ein. (+) steht für Aktivierung, (-) für Hemmung, (+/-) substratabhängige Aktivierung oder Hemmung, 5-HT für Serotonin, BDNF für brain-derived neurotrophic factor, COMT für catechol-O-methyltransferase, DA für Dopamin, Disc1 für disrupted in schizophrenia 1, GSK3 für Glykogensynthasekinase 3, NRG1 für Neuroregulin, PDK1 für 3-Phosphoinositide-dependent kinase-1, PI3K für phosphoinositide-3 kinase, PP2A für Proteinphosphatase 2A, TPH2 für tryptophan hydroxylase 2. (modifiziert nach Beaulieu, 2012)

Eine Verbindung zwischen dem Risiko zu erkranken und Genen im erweiterten MHC(*major histocompatibility complex*)-Bereich wurde als erstes genomweites signifikantes GWAS-Schizophreniezeichen beschrieben (PCG, 2009, Shi et al., 2009, Stefansson et al., 2009).

Die Region, die den MHC kodiert, steht weiterhin im Fokus einiger genomweiter Studien. Zum Beispiel für SNP rs6904071 konnte ein Zusammenhang zur Erkrankung beschrieben werden. Geschlussfolgert wurde eine Assoziation des MHC mit der Struktur und Funktion des Hippokampus und damit auch der Entwicklung und Funktion synaptischer Verbindungen (Walters et al., 2013).

In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass genetische Risikofaktoren von Psychosen wie Varianten von COMT, TPH2, NRG1 oder DISC1 auch einen potentiellen Einfluss auf den AKT-GSK3-Signalweg haben (Beaulieu, 2012, Keri et al., 2010, 2011, Meyer-Lindenberg et al., 2006, Ross et al., 2006, Sei et al., 2010).

2 Einleitung

Vergleicht man die früheren Assoziationsstudien für Kandidatengene mit den aktuellen GWAs, werden einige Vorteile der genomweiten Studien deutlich.

Dass die historischen Kandidatengene zu stabilen und replizierbaren Ergebnissen mit den erhofften Effektgrößen in Bezug auf die genetischen Grundlagen der Schizophrenieentstehung führen, kann mit den heutigen Erkenntnissen nicht bestätigt werden (Farrell et al., 2015).

Des Weiteren überwiegen die statistische Aussagekraft wie auch die Genotypisierungsmöglichkeiten bei Weitem vorangegangene Studiendesigns. Dies führt zu der Annahme, dass ein als signifikant deklariertes Ergebnis früherer Studien aufgrund fehlender *Power* auf einem falsch positiven Ergebnis beruhen könnte (Button et al., 2013, Farrell et al., 2015, Wacholder et al., 2004).

Ein weiterer Aspekt ist, dass die Studie der *Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium* von 2014 außer für DRD2 und GRM3 keinen empirischen Nachweis für einen Großteil der historischen Kandidatengene liefert.

Ein Vergleich der Ergebnisse aus Metaanalysen mit den GWAS Ergebnissen aus 2014 zeigt in Hinblick auf die untersuchten Gene und Studien eine Übereinstimmung dahingehend, dass die Anzahl der signifikant assoziierten Marker in Kandidatengene gegen Null konvergiert (Farrell et al., 2015, Hu et al., 2014, Lee et al., 2010, Loh et al., 2013, Shi et al., 2008, Tan et al., 2014).

2.1.10 Umwelt und Schizophrenie

In der Vergangenheit wurden immer wieder Hypothesen zur Ursächlichkeit einer bestimmten familiären Dynamik für die Schizophrenieentstehung aufgestellt (Bateson et al., 1956, Lidz et al., 1957). Es wurden Unterschiede in der Inzidenz beschrieben, abhängig davon, ob die Person in einem städtischen oder ländlichen Umfeld lebt, ob ein Migrationshintergrund besteht und welchem Geschlecht sie angehört (Tandon et al., 2008a).

So zeigen Männer ein höheres Risiko zu erkranken. Desweiteren wurden Risikoerhöhungen für pränatale Infektionen oder Mangelernährung, perinatale Komplikationen, Drogenmissbrauch und einige andere beschrieben (s. Tab.5).

Beispielhaft sei hier erwähnt, dass sich in einer Studie von Joo et al. (2009) Hinweise darauf ergaben, dass schwerwiegende Komplikationen im Rahmen der Geburt in Zusammenhang mit einem früheren Manifestationsalter bei schizophrenen Frauen stehen.

In welchem Ausmaß Wechselwirkungen zwischen Risikofaktoren das Erkrankungsrisiko erhöhen, kann noch nicht genau definiert werden (Tandon et al., 2008a).

Tabelle 5: Das relative Risiko für Schizophrenie in Abhängigkeit vom Risikofaktor

Risikofaktor	Relatives Risiko
Geschlecht (Männer>Frauen)	1,4
Stadtbewohner	2-3
Migrationshintergrund	2-3
Schwangerschaftsinfektionen	2-3
Geburtskomplikationen	2-3
Cannabis	2-3
Vater >35	1,5-3
Geburt im Winter	1,1

(zusammengefasst aus Aleman et al., 2003, Boyd et al., 1986, Byrne et al., 2007, Cantor-Graae, 2007, Cantor-Graae und Selten, 2005, Davies et al. 2003, Geddes und Lawrie, 1995, Geddes et al., 1999, Pedersen und Mortensen, 2001, Penner und Brown, 2007, Semple et al., 2005, Wohl und Gorwood, 2007, Tandon et al., 2008a)

2.1.11 Neuroanatomie der Schizophrenie

Ein weiterer Punkt in den Analysen zur Schizophrenieentstehung ist die Untersuchung morphologischer Korrelate.

Die Gehirne klinisch erkrankter Schizophreniepatienten wurden vielfach mittels Bildgebung und postmortal untersucht, um anatomische Veränderungen darzustellen.

Hierbei ergaben sich Hinweise, dass strukturelle Veränderungen inter- sowie intraindividuell in unterschiedlicher Form, Ausdehnung und Lokalisation auftreten (DeLisi, 2008). Darüber hinaus waren einzelne dieser Veränderungen auch bei klinisch gesunden Probanden oder im Vorfeld einer Schizophreniemanifestation magnetresonanztomographisch darstellbar (DeLisi et al., 2006, Lymer et al., 2006).

Auffallend waren unter anderem Verkleinerungen der Temporallappen medial mit einem Schwerpunkt linksseitig superior, teils des Frontallappens, atypische Parietallappen und eine Erweiterung der Ventrikel eins bis drei (Lawrie und Abukmeil, 1998, McCarley et al., 1999, Nelson et al., 1998, Ward et al., 1996, Wright et al., 2000).

Diese Beobachtungen geben Hinweise auf einen multilokalen Volumenverlust, der vorwiegend in den Bereichen des Gehirns lokalisiert ist, in denen sich die Zellkörper der Neuronen befinden, also der grauen Substanz (Wright et al., 2000, Zipursky et al., 2000).

Hierbei kann jedoch nicht abschließend beurteilt werden, ob die genannten Veränderungen degenerativ bedingt, konstant oder progredient sind oder auf einer primären Hirnentwicklungsstörung beruhen (Kinney et al., 1998, Lipska et al., 1995, McNeil et al., 2000, Pantelis et al., 2005, Rapaport et al., 2005, Weinberger, 1999).

2.1.12 Neurochemie und Neurobiologie der Schizophrenie

In ätiopathogenetischen Überlegungen zur Schizophrenie werden auch ein zentralnervöses Ungleichgewicht der Überträgersysteme und ein gestörtes Zusammenwirken dieser untereinander diskutiert. Das Hauptaugenmerk hierbei liegt auf den Transmittern Glutamat, Dopamin und Serotonin. Diese bilden damit auch die Grundlage medikamentöser Therapieansätze.

Studien lassen vermuten, dass abhängig von dem jeweiligen gestörten Transmittersystem unterschiedliche klinische Symptome führend sind und damit auch unterschiedlich therapeutisch beeinflusst werden können. So bedingt zum Beispiel eine vermehrte Aktivität des NMDA-Rezeptors eine klinische Besserung von Negativsymptomen. (Tuominen et al. 2005; Javitt, 2006)

Im Gegensatz hierzu beschrieben Abi-Dargham et al. (1998), dass eine gesteigerte Dopaminaktivität zu einer klinischen Verschlechterung von Positivsymptomen führen kann. Auch durch Ebert et al. (2008) wurde ein kausaler Zusammenhang zwischen Positivsymptomen und hyperaktiven dopaminproduzierenden striatalen Nervenzellen diskutiert.

2.1.12.1 Die Dopaminhypothese

Dopamin spielt eine Schlüsselrolle bei vielen physiologischen wie auch pathologischen zerebralen Abläufen und damit auch bei pharmakologischen und therapeutischen Überlegungen (Missale et al., 1998). So wirken sowohl typische als auch atypische Neuroleptika über die Hemmung des D2-Rezeptors und seine hemmend wirksame Familie, die die D2-, D3- und D4-Rezeptoren umfasst (Herdegen, 2008).

Unter anderem auf diesen Wirkungsmechanismen gründet sich die Dopaminhypothese der Schizophrenieentstehung. Diese besagt, dass es im limbischen System (Hippokampus, Gyrus cinguli, Gyrus parahippocampalis, Corpus amygdaloideum und mamillare), einerseits durch vermehrte Produktion, andererseits durch vermehrte Freisetzung zu einem Dopaminüberangebot kommt. Im Gegensatz hierzu findet sich im frontalen Kortex eine reduzierte Dopamintransmission. (Carlsson, 1967, Carlsson und Lindquist, 1963, Davis et al., 1991, Herdegen, 2008, Trepel, 1999)

Negativsymptome und kognitive Einschränkungen können auf ein Zuwenig an dopaminerger Aktivität im präfrontalen Kortex zurückzuführen sein (Andreasen, 1999, Davis et al., 1991). Hingegen könnte die Ursache der Positivsymptome das Zuviel an dopaminerger Stimulation im Striatum sein, das in verschiedenen Studien postuliert wurde (Abi-Dargham et al., 1998,

2 Einleitung

Abi-Dargham und Moore, 2003, Breier et al., 1997, Laruelle et al., 1996). Über eine Lokalisation in diesen Gehirnarealen sind sowohl typische Symptome, als auch medikamentöse Wirkungen und Nebenwirkungen wie Veränderungen von Verhalten, Gedächtnis und Affektverhalten herleitbar (Trepel, 1999).

Als Folge der Dopaminänderung im limbischen System werden Halluzination und Wahn im Sinne einer Fehlinterpretation der Umwelt gedeutet. Zurückgeführt auf die frontalen Veränderungen werden Störungen von Kognition und Affekt. Ein weiterer Hinweis auf eine Beteiligung des dopaminergen Systems an der Schizophrenie ist der Einfluss von Medikamenten und Drogen auf dieses. So können zum Beispiel Amphetamine bei nicht erkrankten Personen eine krankheitsspezifische Symptomatik hervorrufen und bei Betroffenen zu einer Verschlechterung beziehungsweise einem Rückfall führen. (Herdegen, 2008, Kapur und Remington, 1996, Laruelle et al., 1996, Möller, 2005a,b, Ross et al., 2006) Patienten bei denen eine schizotype Persönlichkeitsstörung diagnostiziert worden war, zeigten in Studien ebenso wie Schizophreniekranken eine gesteigerte Dopaminfreisetzung nach der Gabe von Amphetaminen (Abi-Dargham et al., 1998, 2004, Breier et al., 1997, Laruelle et al., 1996).

Auch für die Dopaminhypothese spricht, dass bei unbehandelten Patienten eine dezente Steigerung der Expression von D2-Rezeptoren gezeigt werden konnte (Laruelle 1998; Zakzanis und Hansen 1998).

Die erhöhte dopaminerge Aktivität könnte auch aus einem Zuwenig an serotonerger Hemmung des präfrontalen Kortex resultieren (Kapur und Remington, 1996). Das heißt über die Dopaminhypothese hinaus gibt es Hinweise auf eine Beteiligung von Serotonin und Glutamat, sowohl einzeln als auch im Zusammenwirken der verschiedenen Transmittersysteme. Das definitive Ausmaß, die Wechselwirkungen und damit eine Quantifizierung ihres Einflusses auf Krankheitsentstehung und -progredienz der Schizophrenie sind jedoch noch nicht abschließend geklärt.

2.1.12.2 Die Serotoninhypothese

Für eine Beteiligung des serotonergen Systems spricht die Beobachtung, dass atypische Neuroleptika hemmend auf den 5-HT_{2a}-Rezeptor wirken, noch bevor sie am D₂-Rezeptor aktiv werden (Diaz-Mataix et al., 2005, Herdeggen, 2008, Ichikawa et al., 2001, Terry et al., 2008).

Dazu kommt, dass bei Stimulation der serotonergen Transmission über Medikamente oder auch Drogen wie etwa LSD (Lysergsäurediethylamid: Halluzinogen) eine Psychose induziert werden kann (Abi-Saab et al., 1998, Gouzoulis-Mayfrank et al., 2005, Herdeggen, 2008, Meltzer, 1987). Es ist bekannt, dass Untergruppen von temporalen und präfrontalen Serotoninrezeptoren bei Erkrankten in ihrer Anzahl verändert sein können (Laruelle et al., 1993). Von Kapur und Remington (1996) wurde die These aufgestellt, dass die Hyperaktivität des Dopamins durch eine verminderte Hemmung durch Serotonin in diesen Bereichen bedingt ist.

2.1.12.3 Die Glutamathypothese

In den 1980er Jahren kam erstmals die Vermutung auf, dass Glutamat in unmittelbarem Zusammenhang mit der Schizophrenieerkrankung stehen könnte. Die NMDA-Rezeptor-Hypofunktions-Hypothese entstand auf der Grundlage klinischer und experimenteller Beobachtungen. (Coyle, 2012, Kristiansen et al., 2007)

Eine Unterfunktion des NMDA-Rezeptors (N-Methyl-D-Aspartat) beziehungsweise die Gabe von Rezeptorantagonisten wie dem dissoziativem Anästhetikum Ketamin kann die gesamte Bandbreite schizophrener Symptome wie Psychosen, Negativsymptome und kognitive Beeinträchtigungen auslösen oder neurodegenerative Veränderungen in Versuchstieren bedingen (Coyle et al., 2012, Krystal et al., 1994, Olney und Farber, 1995).

Umgekehrt führt eine durch Antipsychotika gesteigerte Funktion des NMDA-Rezeptors zur Verminderung von Negativsymptomen (Coyle, 2012).

Es wird vermutet, dass es im Rahmen der Schizophrenie zu molekularen und zellulären Veränderungen in glutamatgesteuerten Signalwegen kommt und darüber die exzitatorische Kommunikation zwischen unterschiedlichen Regionen des Gehirns beeinflusst wird (Kristiansen et al., 2007).

Endogene Regulatoren von NMDA-Rezeptoren zeigten in postmortalen Untersuchungen an Schizophrenieerkrankten Unregelmäßigkeiten. Assoziationsstudien sagen aus, dass

2 Einleitung

Allelvarianten einiger Gene mit Einfluss auf die Rezeptorfunktion, wie zum Beispiel Dysbindin und Neuregulin zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko führen können. Eine Rezeptorunterfunktion scheint vor allem eine Herabregulation schnellfeuernder GABAerger Interneurone zu bedingen. (Coyle, 2012, Coyle et al., 2012)

Die folgende Dysinhibition pyramidalen Zellen stört kortikale Abläufe und kann über eine exzessive Glutamatstimulation zu Schäden an Neuronen bis hin zu deren Absterben führen (Coyle et al., 2012, Marsman et al., 2014). Marsman et al. machten 2014 mittels MRS (*Proton Magnetic Resonance Spectroscopy*)-in vivo-Messungen an Schizophreniepatienten auf ein signifikant niedrigeres GABA/Kreatin-Verhältnis im Praefrontalen Kortex Betroffener aufmerksam.

Die Bezeichnung schizophrener Psychosen als Neurotransmitterimbancesyndrom beruht auf der Vermutung, dass Störungen in verschiedenen Signalwegen zusammen die Erkrankung bedingen können (Möller et al., 2011).

Dopamin- und Glutamathypothese stehen hierbei in einem antagonistischen Verhältnis zueinander, das glutamatgebundene Transmittersystem steht in Wechselwirkung mit den Dopamin- und GABA-Systemen. So hemmen zum Beispiel GABAerge Interneurone glutamatregulierte Pyramidenzellen. Auf den besagten Interneuronen befinden sich auch NMDA-Rezeptoren, die wiederum deren Aktivitätslage modifizieren können. Über Störungen in diesem Bereich und dadurch bedingte Dysbalancen der Neurotransmitter kann es zur Schädigung von Nervenzellen kommen, wie sie auch bei schizophrenen Patienten im frontalen Kortex und dem Hippokampus vorkommen. (Coyle und Tsai, 2004, Olney et al., 1991, Olney und Farber, 1995, Reynolds et al., 2004, Stone et al., 2007)

Glutaminerge Neurone im Kortex hemmen die Dopaminfreisetzung aus Hirnstammneuronen, die Disinhibition glutaminereger Efferenzen führt folglich zu einer vermehrten subkortikalen Dopaminfreisetzung (Coyle et al., 2012).

Eine dopaminerge Hyperaktivität in Kombination mit einer glutaminergen Hypoaktivität kann über eine mangelhafte Filterung durch den Thalamus, zu einer sensorischen Reizüberflutung des Kortex führen (Carlsson, 1995, Carlsson et al., 2001, Kornhuber, 1990, Möller et al., 2011). Wegen der vielen reziproken Einflussmöglichkeiten der Transmittersysteme untereinander ist eine definitive Kausalitätszuordnung schwierig (Stone et al., 2007).

2.1.13 Endophänotypen

Ein Hauptproblem in der Erforschung der Schizophrenie ist die vielschichtige multifaktorielle Ätiologie der Erkrankung. Das Ziel einer eindeutigeren Definition und einer Einordnung variabler Einflussfaktoren verfolgt das Konzept der Endophänotypen. Dieses Konzept beruht auf dem Ansatz, die Schizophrenie unter neurobiologischen, biochemischen, kognitiven, neuropsychologischen, endokrinologischen, neuroanatomischen und neurophysiologischen Gesichtspunkten zu untersuchen und einzuteilen und wurde in den Siebzigerjahren durch Gottesmann begründet. (Allen et al., 2008, Braff et al., 2008, Gottesman et al., 1972, Gottesman und Gould, 2003, Gottesman et al., 1987)

Die Intention dieser Einteilung liegt in der Definition konstanter morphologischer und biochemischer Veränderungen, die in einem kausalen Zusammenhang mit Krankheitsentstehung und –verlauf stehen, und die unter Umständen im Vergleich zum variablen klinischen Bild genetisch determiniert sind (Gur et al., 2007a).

Endophänotypen unterscheiden sich entsprechend von klinischen Phänotypen, sie stellen eine Verbindung zwischen der Krankheit und dem Genotyp dar (Gottesman und Gould, 2003).

Interessanterweise ergaben Untersuchungen von Gur et al. (2007), dass neurokognitive Messgrößen (zum Beispiel Messungen von Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtniss) mit der Schizophrenieerkrankung assoziiert waren, sich aber auch zwischen unbetroffenen Verwandten Erkrankter und der blanden Vergleichsgruppe unterschieden. Dies wiederum lässt eine erblich bedingte Ursache vermuten. Deshalb scheint das Konzept der Endophänotypen geeignet für genetische Analysen. (Gur et al., 2007b)

Beispiele neurophysiologischer Endophänotypen sind gehäufte Fehler bei Antisakkadentests oder eine Verminderung der Präpulsinhibition bei Patienten (Braff et al., 2001, Cadenhead et al., 2000, Calkins et al., 2004, Turetsky et al., 2007). Es wird postuliert, dass Endophänotypen enger als die Krankheitssymptome an eine genetische Grundlage gekoppelt sind, und durch sie einfacher die molekularen Mechanismen der Erkrankung bestimmt werden können. Der Blickwinkel, dass psychiatrische Diagnosen aufgespalten werden können, kann eine direktere und einfachere genetische Analyse ermöglichen. In jedem Fall müssen die psychiatrischen Endophänotypen bestimmte Kriterien erfüllen. Diese sind eine Verbindung zum Kandidatengen oder zur entsprechenden Genregion, Erbllichkeit, die sich aus dem relativen Risiko von Verwandten für die Störung ableiten lässt, Stabilität über akute und chronische Krankheitsphasen hinweg, innerfamiliäre Kumulation des krankheitsgebundenen

2 Einleitung

Endophänotyps im Vergleich zum Kontrollkollektiv, und krankheitsspezifische Assoziationsparameter. (Gottesman und Gould, 2003)

Zusammenfassend ist zu konstatieren, dass die quantitativen neurokognitiven Phänotypen und ihr genetischer Hintergrund zwar noch genauer erforscht werden müssen, darüber hinaus aber die Möglichkeit zu einem Einblick in die Wechselwirkungen zwischen Genetik und Umwelt in Bezug auf das Zentralnervensystem und das Verhalten bei Erkrankten, Verwandten und Gesunden bieten können (Gur et al., 2007a).

Nachteile der Endophänotypen sind, dass sie gegebenenfalls nicht spezifisch für eine Erkrankung sind, sondern ebenso auch bei anderen auftreten können, dass sie sehr komplex sein können und eine ungenügende Sensitivität aufweisen. Wird dies berücksichtigt, ergeben sich diverse Anwendungsmöglichkeiten. (Ferrarelli, 2013, Zobel und Maier, 2004)

2.2 Die AKT-Familie

Die zellulären Mechanismen mit mittelbarem oder unmittelbarem Einfluss auf die klinische Manifestation der Schizophrenie sind noch unzureichend erklärt.

Krankheitsbilder können, wie oben beschrieben, im Rahmen der Endophänotypen für genetische Analysen zerlegt werden, exemplarisch sei hier die Messung der Antwort auf eine Behandlung mit Lithium genannt (Detera-Wadleigh, 2001; Gottesman und Gould, 2003, Mansour et al., 2002). Lithium wiederum kann zu einer erhöhten Aktivität von AKT-1 (*V-akt murine thymoma viral oncogene*) führen (Chalecka-Franaszek und Chuang, 1999). Tian et al. (2014) beschrieben, dass Lithium die GSK-3 β -Aktivität steigert, indem es die AKT-Phosphorylierung hemmt.

Kinasen der AKT-Familie wurden zuerst von Emamian et al. 2004 in Zusammenhang mit der Schizophrenieentstehung gebracht. Dies beruhte auf den Beobachtungen, dass Lithium, das unter anderem in der Phasenprophylaxe der Schizophrenietherapie eingesetzt wird, in der AKT-GSK3 β -Signalweg eingreift (Emamian et al., 2004, Gleixner et al., 2011).

Die AKT-Familie umfasst drei Mitglieder, die fortlaufend mit den Zahlen eins bis drei bezeichnet werden, AKT1 (14q32.32), AKT2 (19q13.1-q13.2) und AKT3 (1q44) (Beaulieu, 2012, Staal et al., 1988) (s. Abb. 4). Kodiert werden sie von drei verschiedenen Genen (Bellacosa et al., 2004). Die Bezeichnung AKT ist gleichbedeutend mit PKB (Proteinkinase B) (Karege et al., 2010).

Die Proteinkinasen B/AKTs sind der Subfamilie der AGC-Kinasen (Kinasengruppe, benannt nach den ihr untergeordneten Gruppen der PKA-, PKG- und PKC-Kinasen) zuzuordnen, die

2 Einleitung

insgesamt über 60 verschiedene Kinasen aus 14 Familien beinhaltet und mannigfaltige wichtige Zellfunktionen vermittelt (Arencibia et al., 2013, Pearce et al., 2010).

Alternative Bezeichnungen von AKT 1-3 sind PKB α , β , und γ beziehungsweise RAC-PK α , β , und γ (*related to the A and C kinases*) (Downward, 1998, Somanath et al., 2006).

Die Wirkweise einer Kinase besteht in der Phosphorylierung von Substraten, das heißt sie transportiert Phosphatgruppen zwischen Proteinen. Die Kinasen AKT1-3 sind im Stande über 900 Proteine zu phosphorylieren. (Lawlor und Alessi, 2001)

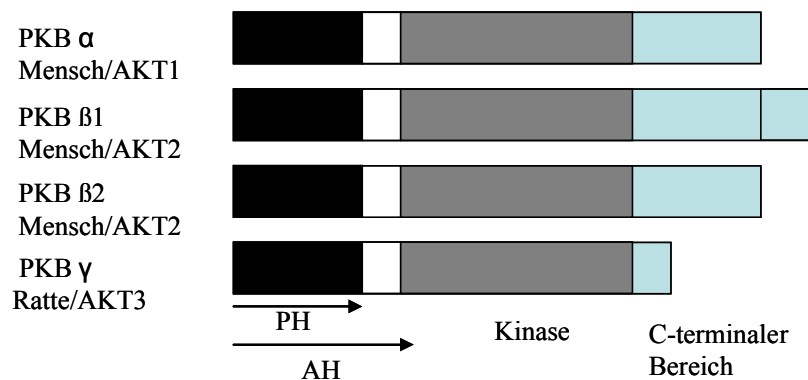


Abbildung 4: Schematischer Aufbau der Isoformen von PKB/AKT; AH steht für AKT homology domain, PH für Pleckstrin homology domain. (modifiziert nach Downward, 1998, U.S. National Library of Medicine, 2013)

Chromosom 14 umfasst insgesamt zwischen 105.235.685 und 105.262.079 Basenpaare (U.S. National Library of Medicine, 2013) AKT1 liegt auf dessen langem Arm (q) an Position 32.32 zwischen den Basenpaaren 105.235.685 und 105.262.079 und besteht aus 16 Exons (Ide et al., 2006, U.S. National Library of Medicine, 2013).

Bereits 1988 wurde AKT1 auf Chromosom 14 nahe der schweren Kette von Immunglobulinen auf Bande 32q von Staal et al. (1988) anhand der Analyse von somatischen Zellhybriden (Hamster/Mensch) und von in situ-Hybridisierung lokalisiert.

Drei Jahre später wurde AKT unabhängig voneinander von drei weiteren Arbeitsgruppen beschrieben. Zwei davon identifizierten diese Kinase wegen ihrer Ähnlichkeit zu den Proteinkinasen A und C. Zu beiden Kinasen bestand eine Übereinstimmung von jeweils etwa 70%. Resultierend hieraus bekam die Kinase die Namen Proteinkinase B und RAC-PK. Im gleichen Jahr wurde das Enzym als das Produkt des Onkogens v-akt des akut transformierenden Retrovirus AKT8 im T-Zelllymphom von Nagern entdeckt. Hieraus resultierte die Bezeichnung *V-akt murine thymoma viral oncogene* (Bellacosa et al., 1991, Coffey und Woodgett, 1991, Jones et al., 1991).

2 Einleitung

Die damit bezeichnete Serin/Threonin-Proteinkinase ist über die Signaltransduktionswege Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3Ks) und Glykogensynthasekinase- β (GSK-3 β) essentiell für Überleben, Wachstum und Wanderung von Zellen. Dies ist unter anderem über den Einfluss auf Insulin und Wachstumsfaktoren möglich. (Alessi et al., 1996, Aubry et al., 2009, Datta et al., 1999, Karege et al., 2010, Saudemont und Colucci, 2009, Thiselton et al., 2008)

Die physiologische Aktivierung der AKT-Kinasen wird über Wachstumsfaktoren induziert, die die PI3K aktivieren (Kandel et al., 2002).

Die Mitglieder eins und zwei werden in hohem Maße im menschlichen Zentralnervensystem exprimiert und könnten wichtig für dessen Entwicklung, seine synaptische-neuronale Plastizität und den programmierten Zelltod sein (Karege et al., 2010, Nakai et al., 2014).

2.2.1 Funktionen von AKT-Kinasen

AKT 1-3 sind zentrale Zwischenstufen flussabwärts des D2-Rezeptors, der wiederum einen wichtigen Angriffspunkt antipsychotischer Arzneimittel darstellt (Kandel et al., 2002). Verschiedene tierexperimentelle Studien geben einen Hinweis darauf, dass die Aktivität und Funktion von AKTs mit der Dopamintransmission zusammenhängt (Lai et al., 2006).

Für den D2/AKT1/GSK-3 β -Signalweg wurde beschrieben, dass er spätere Effekte von Dopamin beeinflusst, sowohl in der Pathophysiologie kognitiver Defizite, in der Gehirnaktivität bei Schizophrenie als auch in der Wirkung antipsychotischer Medikamente (Blasi et al., 2011). Der therapeutische Effekt von Dopamin ist spezifisch für die Aktivierung der DRD2, wobei die Anregung von DRD2, aber nicht von DRD1 zu einer cAMP-abhängigen (*Cyclic Adenosin Monophosphate*) Dephosphorylierung und Inaktivierung von AKT führt (Beaulieu et al., 2004, 2005, Emamian et al., 2004, Lai et al., 2006).

In Endothelzellen wird eine Vielzahl von Funktionen, die durch Wachstumsfaktoren vermittelt werden, über den PI3-Kinase/AKT-Signalweg geregelt. Darüber hinaus scheinen AKT 1-3 wichtige Funktionen in den Bereichen des Überlebens, der Wanderung von Zellen allgemein, Glukosestoffwechsel, Zellzyklus, Transkriptionsregulation, vaskulärem Tonus, Apoptose und Tumorentstehung zu erfüllen. (Alon et al., 1995, Brazil et al., 2004, Chen et al., 2005, Fujio und Walsh, 1999, Gerber et al., 1998, Lee et al., 2014, Morales-Ruiz et al., 2000, Somanath et al., 2006, Shiojima und Walsh, 2002, Vivanco et al., 2014)

In Tierversuchen an *knockout*-Mäusen wurde gezeigt, dass ein Verlust des AKT1-Gens unter anderem eine Wachstumsretardierung zur Folge hatte (Somanath et al., 2006). AKT2-

Defizienz bedingte einen geringeren Wachstumsrückgang und Diabetes (Cho et al., 2001, Garofalo et al., 2003). Der Verlust von AKT3 führte zu einer reduzierten Gehirngröße (Easton et al., 2005). Teils zeigten sich Überschneidungen in den Funktionen der AKT-Mitglieder, eventuell, weil sie von verschiedenen Zelltypen exprimiert werden (Somanath et al., 2006).

2.2.2 Der AKT-Signalweg und seine Aktivierung

Die Funktionen der Dopaminrezeptoren wurden ursprünglich mit der Regulation von cAMP und der PKA in Verbindung gebracht (Beaulieu, 2012).

AKT-Kinasen werden durch D2- und D3-Dopaminrezeptoragonisten gesteuert, deren eindeutiger Stellenwert aber noch nicht abschließend geklärt ist. In der tierexperimentellen Untersuchung von Salle et al. 2013 führte die Gabe eines D2R-/D3R-Rezeptoragonisten zu einer vorübergehenden Erhöhung der AKT-Kinasen und der GSK3 β -Phosphorylierung im Nucleus accumbens und dem dorsalen Striatum der Ratte. Diese Auswirkungen konnten nicht bei den Versuchstieren gezeigt werden, bei denen der D3-Rezeptor ausgeschaltet war. Bei vorhandenen D3-Rezeptoren schien deren Anregung vorübergehend den AKT/GSK3 β -Signalweg zu aktivieren. Das wiederum ist eine mögliche Erklärung für die Wirksamkeit von D3-Rezeptorliganden auf gestörte kognitive Prozesse, wie sie im Rahmen der Schizophrenie auftreten. (Salles et al., 2013)

Primär wird die AKT-Aktivierung über eine Anregung verschiedener Rezeptoren auf der Zelloberfläche wie G-proteingekoppelte Rezeptoren (GPCRs), Tyrosinrezeptorkinasen, und als Reaktion auf eine Vielzahl von Wachstumsstimulatoren wie PDGF (*platelet derived growth factor*), EGF (*epidermal growth factor*), NGF (*nerve growth factor*), Insulin und Thrombin gestartet (Downward, 1998).

Im Anschluss werden alle AKT-Isoformen als Antwort auf ein PI3K (Phosphoinositol-3-Kinase)-vermitteltes Signal aktiviert. Nach dieser Aktivierung werden AKTs durch eine Kinase (PDK 1, PIP-3-dependent-kinase 1) phosphoryliert und so in der Plasmamembran verankert, wo sie ihre volle Aktivität entfalten. Das heißt, eine Aktivierung des PI3K-Signalwegs führt zu einer Aktivierung von AKT (s. Abb. 5).

Die Verfügbarkeit von Phospholipiden ist hierbei limitierend für eine Aktivierung, wirkt also als negativer Regulator, ebenso Proteinphosphatasen wie die Phosphatase 2A, die AKT in vivo inaktiviert. Aktiviertes Ras (*Rat Sarcoma*) hingegen kann einzelne Kinasen heraufregulieren und AKT aktivieren. (Andjelkovic et al., 1996, Beaulieu, 2012, Beaulieu et al., 2005, Downward, 1998, Kandel und Hay, 1999, Kandel et al., 2002, Scheid und Woodgett, 2011, Ugi et al., 2004)

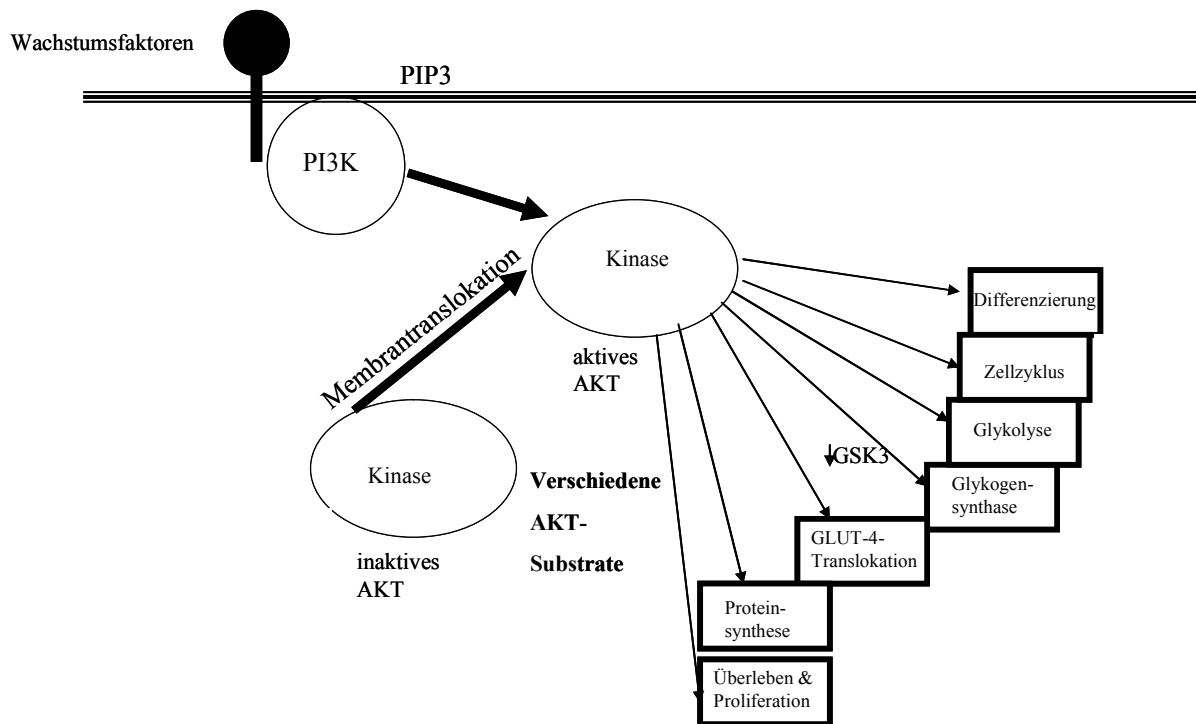


Abbildung 5: Aktivierung von AKT über Pi3K-gesteuerte Mechanismen. Wachstumsfaktoren aktivieren diese Kinase. Eine höhere Konzentration von PIP3 an der Plasmamembran lockt Proteine aus dem Zytosol an, in diesem Fall AKT. AKT wird an die Plasmamembran gebunden und dort phosphoryliert. Als Folge dessen phosphoryliert AKT selbst verschiedene Substrate wie die in der Grafik exemplarisch aufgeführte Glykogensynthasekinase 3 (modifiziert nach Downward, 1998, Mahajan und Mahajan, 2012)

2.2.3 AKT und Angiogenese

Eine weitere Funktion wird der AKT-Familie im Rahmen der Gefäßbildung zugesprochen, indem sie verschiedene pro- und kontraangiogenetische Faktoren beeinflusst, die AKT-Signalwirkungen sind also teils antagonistisch zueinander (Lee et al., 2014, Somanath et al., 2006).

Der genaue Stellenwert der AKT-Kinasen im Bereich der Gefäßneubildung ist noch unklar (Chen et al., 2005).

Chen et al. zeigten 2005 im Tierversuch, dass eine Ausschaltung des AKT1-Gens mit einer gestörten Blutgefäßbildung und einer erhöhten vaskulären Durchlässigkeit einherging. In dem Kontext der Gefäßbildung stellen PKB/AKTs einen potentiellen Angriffspunkt therapeutischer Intervention bei Karzinomen, ischämisch bedingten und anderen Krankheitsbildern wie zum Beispiel dem Myokardinfarkt oder Apoplex dar, die vaskuläre Ursachen haben (Chen et al., 2005).

In früheren AKT-Studien lag ein Hauptaugenmerk auf der Definition seiner Rolle im kardiovaskulären System. So ist es höchstwahrscheinlich, dass AKT1-3 eine zentrale Stellung

2 Einleitung

in der Steuerung verschiedener Signalwege in Endothelzellen, Fibroblasten und Kardiomyozyten spielen (Somanath et al., 2006).

2.2.4 AKT in der Kanzerogenese

Eine andere Wirkung, die für die AKT-Familie beschrieben wurde, ist ihre Beteiligung an der Entstehung maligner Tumore. So wurde eine Aktivierung von AKTs in Karzinomen beobachtet. In diesem Zusammenhang werden AKTs auch als Onkogene bezeichnet. Der PI3K/AKT1-Signalweg ist unter anderem an der Progression im Zellzyklus beteiligt. (Chang et al., 2003)

Kandel et al. verglichen 2002 polyklonale Rat1a-Zellen, die die aktive AKT-Form MyrAKT exprimierten mit einer Kontrollgruppe, im Anschluss daran wurden beide Zellgruppen unter anderem Gammastrahlung ausgesetzt.

Der G2/M-Übergang wird maßgeblich durch Cdk1 (*Cyclin Dependent Kinase 1*) reguliert. An diesem Kontrollpunkt hält die Zelle üblicherweise bei stattgehabter DNA-Schädigung vor einem Übertritt in die Mitose an. Sie kann repariert oder in die Apoptose geleitet werden. (Stark und Taylor, 2004)

Interessanterweise war dies bei Zellen mit aktivierten AKTs deutlich seltener der Fall als bei den Kontrollen. Es konnte gezeigt werden, dass aktivierte, das heißt phosphorylierte AKT-Kinasen sowohl den G2/M-Kontrollpunkt als auch die Apoptoseeinleitung, ausgelöst durch DNA-Schädigung, überwinden kann. (Kandel et al., 2002) (s. Abb. 6)

Kandel et al. stellten fest, dass ein PTEN (*Phosphatase And Tensin Homolog*)-Verlust dazu führt, dass Zellen leichter und schneller von der G2/M in die G1-Phase des Zellzyklus übergehen. PTEN hat über den Signalweg PI3K/PTEN/AKT Einfluss auf das Fortschreiten des Zyklus und das Überleben der Einzelzelle. (Hlobilkova et al., 2006, Kandel et al., 2002, Sun et al., 1999) (s. Abb. 6)

Ebenso wird auch eine Wirkung von AKTs auf p53-vermittelte Kontrollpunkte des Zellzyklus im Sinne einer Gleichbedeutung mit einer p53-Inaktivierung diskutiert. P53 kontrolliert als „Wächter des Genoms“ sowohl den G2/M- als auch den G1-Kontrollpunkt und trägt so entscheidend zur Sicherung genetisch intakten Materials bei. Die Folge ist die Beseitigung von Kontrollpunkten in Kombination mit einer Apoptosehemmung. AKT vermittelt die negative Kontrolle des p53-Spiegels (Abraham und O'Neill, 2014, Agarwal et al., 1995, Kandel et al., 2002, Mayo und Donner, 2001, Zhou et al., 2001a, 2001b).

2 Einleitung

Ein gänzlich deregulierter PI3K-AKT-mTOR-Signalweg ist Bestandteil von Karzinomen (Vadlakonda et al., 2013b). MTOR (*Mammalian/Mechanistic Target Of Rapamycin*) spielt im Zusammenwirken mit Umgebungsfaktoren eine wichtige Rolle unter anderem in der Steuerung von Wachstum und Homeostase (Laplane und Sabatini, 2012).

Auf diesem Weg scheint es Zellen mit einer AKT-Aktivierung möglich, sich fortlaufend zu teilen ohne durch Apoptosesignale aufgehalten zu werden. Dieses Verhalten zeigen die entsprechenden Zellen auch bei kontinuierlicher Einwirkung und Anhäufung mutagener Faktoren wie bei einer Inaktivierung von exogen experimentiertem HSV-tk (*Herpes Simplex Virus Thymidine Kinase*)-Gen, die Autoren der hierzu durchgeführten Studie (Kandel et al., 2002) folgerten aus ihren Ergebnissen, dass ein Zusammentreffen einer AKT-Hyperaktivität mit seiner antiapoptotischen Wirkung zu einer genetischen Instabilität beiträgt, die im Zusammenhang mit der Entstehung maligner Tumoren steht. AKT-Kinasen stellen wegen ihrer Schlüsselrolle für Tumorzellen entsprechend attraktive medikamentöse Angriffspunkte in der Onkologie dar (Kumar und Madison, 2005).

AKTs wird eine Rolle in der Entstehung von Karzinom von Mamma, Ovar und Kolorektum zugeschrieben (Bose et al., 2006, Hanrahan et al., 2012, Johnson et al., 2010).

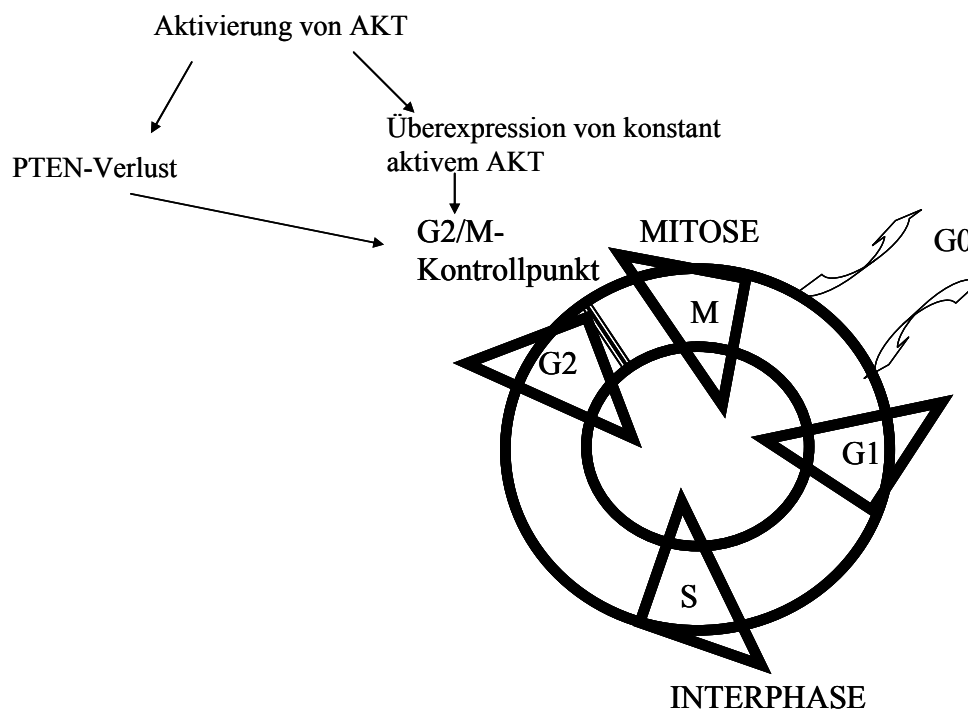


Abbildung 6: schematische Darstellung des Zellzyklus in Eukaryonten und seine Unterteilung in die vier Phasen Mitose (M), DNA-Synthese (S), Gap1 (G1) und Gap2 (G2), die die Zelle im Rahmen der Zellproliferation durchläuft. Gap0 (G0) entspricht einer Ruhephase von der Teilung. Die Übergänge zwischen diesen Phasen werden durch zyklinabhängige Kinasen gesteuert; verschiedene Kontrollpunktmechanismen sichern den koordinierten und fehlerfreien Ablauf (modifiziert nach Dehay und Kennedy, 2007, Kandel et al., 2002, Schmidt, 2003a)

2.2.5 AKT und das Proteus-Syndrom

Mutationen im AKT1-Gen werden unter anderem mit dem Proteus-Syndrom, das durch ein übermäßiges Wachstum von Knochen-, Haut- und anderen Geweben charakterisiert ist und so zu partiellem Riesenwuchs führt, in Verbindung gebracht (Hildebrandt et al, 1998, Lindhurst et al., 2011, U.S. National Library of Medicine, 2013).

Durch eine somatische Punktmutation im Sinne eines Aminosäureaustausches innerhalb der AKT1-Kinase kommt es zu deren Überaktivität und damit zu beschriebener Dysplasie. Die Folge ist ein Austausch von Glutamat und Lysin an Position 17 und insgesamt ein Genmosaik. Ein Einfluss des PI3K-AKT-Signalwegs auf das charakteristische klinische Erscheinungsbild und auf eine Tumoranfälligkeit dieser Patienten wird diskutiert. (Lindhurst et al., 2011)

2.3 AKT1 und Schizophrenie

Die AKT1-Kinase scheint maßgeblich an einer normalen Entwicklung und Funktion des Nervensystems beteiligt. Studien geben Hinweise auf eine Beteiligung an der Kommunikation zwischen Neuronen, ihrem Überleben und der Gedächtnisbildung (Hoorwood et al., 2006, Pietilainen et al., 2009).

Die Aktivierung von AKT wurde in der Vergangenheit auch mit dem hemmenden GABAergen und dem anregenden glutamatergen System in Verbindung gebracht (Kim et al., 2002, Wang et al., 2003). Veränderungen dieser beiden miteinander verbundenen Transmittersysteme wurden über postmortale Untersuchungen in einen Zusammenhang mit der Schizophrenieentstehung diskutiert (Wassef et al., 2003). Neuronen von AKT1-*knockout*-Mäusen reagierten sensibler auf einen Glutamatrezeptoragonisten (Kim et al., 2002).

Ein Ansatz für eine mögliche Verknüpfung von AKT1 und der Schizophrenie war der von Emamian et al. (2004). Sie vermuteten, dass genetisch bedingte Veränderungen von Proteinkinasen die Grundlagen dafür seien und verglichen Erkrankte und Gesunde kaukasischer Herkunft hinsichtlich möglicher Unterschiede in sieben Proteinkinasen und Phosphatasen und detektierten eine Differenz ausschließlich für AKT1. In den folgenden Untersuchungen wurde bei der Analyse von AKT1-SNPs eine positive Assoziation festgestellt. Es erscheint jedoch unwahrscheinlich, dass der Haplotyp die Unterschiede in den AKT1-Spiegeln zwischen Gesunden und Erkrankten vollständig erklärt. In weiteren Analysen

2 Einleitung

wurde eine Reduktion der GSK3 β bei schizophrenen Patienten festgestellt. (Emamian et al., 2004, Kozlovsky et al., 2004)

Untersuchungen lassen eine Assoziation zwischen AKT-1-Signalwegen und der Entstehung der Schizophrenie und der affektiven Störung vermuten (Beaulieu et al., 2009, Tan et al., 2008). Auch scheinen bipolare Erkrankungen und die Schizophrenie einigen Gemeinsamkeiten wie entsprechende klinische und genetische Charakteristika zu haben, die so bisher nicht gesehen wurden (Craddock et al., 2009, Karege et al., 2010, Shao und Vawter, 2008, Toyota et al., 2003). In einigen unabhängigen Studien wurde ein Zusammenhang von AKT1-Haplotypen mit der Schizophrenie und bipolaren Erkrankungen gezeigt (Beaulieu, 2012, Beaulieu et al., 2009, Emamian et al., 2004, Freyberg et al., 2010, Karege et al., 2010, Lai et al., 2006, Magno et al., 2010). So beschrieben zum Beispiel Emamian et al. (2004) einen Haplotypen aus drei SNPs (*Single Nukleotide Polymorphisms*, Einzelnukleotidpolymorphismen), der bei einem p-Wert von 0,0006 einen signifikanten Zusammenhang mit der Erkrankung zeigte. Im Rahmen derselben Studie zeigte sich auch eine Assoziation anderer Haplotypen, denen allen ein Merkmal mit zwei der SNPs des signifikanten Haplotypen gemein war und die beiden ersten Exons daraus enthielt (Emamian et al., 2004).

Unter anderem konnte bei schizophrenen Patienten eine Abnahme von mRNA- und Proteinspiegel von AKT1 in lymphozytären Zellen und den Gehirnen verstorbener an Schizophrenie erkrankter Patienten gezeigt werden (Emamian et al., 2004). Interessant ist in diesem Zusammenhang auch der Einfluss von gegen schizophrene und bipolare Erkrankungen verwendeten Medikamenten auf AKT-Kinasen. In vivo- und in vitro-Studien zeigten unter anderem eine Verstärkung der AKT-Signalwege durch diese Medikamente. (Aubry et al., 2009, Emamian et al., 2004, Karege et al., 2010, Tan et al., 2008)

In besagten Hirnschnitten wurden verminderte Spiegel an phosphoryliertem GSK3 β beobachtet, was wiederum durch einen AKT1-Mangel bedingt sein kann (Beaulieu, 2012, Emamian et al., 2004, Karege et al., 2007).

Ein weiterer Hinweis auf einen kausalen Zusammenhang zwischen psychischen Erkrankungen (wie bipolaren Störungen und der Schizophrenie) und Veränderungen im AKT-GSK3 β -Signalweg geben die Gene NRG1 (Neuregulin 1), COMT (Catechol-O-Methyltransferase) und TPH2 (Tryptophan Hydroxylase). Varianten dieser können den

2 Einleitung

Signalweg beeinflussen und werden in der Literatur als potentielle Suszeptibilitätsgene der Schizophrenie und der bipolaren Erkrankungen beschrieben. (Beaulieu, 2007, 2012, Keri et al., 2010, 2011, Meyer-Lindenberg et al., 2006, Ross et al., 2006, Sei et al., 2010, Serretti und Mandelli, 2008)

In den letzten zehn Jahren wurden verschiedene SNPs aus AKT1 und ihre potentielle Beteiligung an der Krankheitsentstehung an verschiedenen Bevölkerungsgruppen untersucht, die teils einen Zusammenhang bestätigten, ihn teils aber auch widerlegten (Bajestan et al., 2006, Ide et al., 2006, Ikeda et al., 2004, Karege et al., 2010, Norton et al., 2007, Ohtsuki et al., 2004, Thiselton et al., 2008, Xu et al., 2007).

Thiselton et al. untersuchten 2008 die Expression von AKT1-mRNA postmortaler Proben der Gehirne von Personen, die an Schizophrenie oder bipolaren Störungen erkrankt waren und gesunder Kontrollpersonen. Sie beschrieben niedrigere RNA-Spiegel im präfrontalen Kortex von Schizophrenie betroffener Personen. Thiselton et al. vermuteten, dass einzelne Haplotypen am 5' Ende von AKT1 mit der Schizophrenie assoziiert seien.

Einen Überblick über Studien, die Polymorphismen im AKT1-Gen untersuchten gibt Tabelle 13 (s. Abschnitt 6.2).

Karege et al. beschrieben 2010 nach der Untersuchung von sechs SNPs und der Messung von AKT1 und AKT2-Proteinspiegeln, dass AKT1 sowohl mit der Schizophrenie als auch mit bipolaren Störungen in Zusammenhang steht.

Die Arbeitsgruppe um Schwab et al. (2005) untersuchte in einer Geschwister-Studie (*Sib-Pair-Study*) in Deutschland 79 Familien in Bezug auf eine Assoziation von sieben mit der Erkrankung in Verbindung gebrachten SNPs. Hierbei erwiesen sich einzelne Marker und multilokale Haplotypen als signifikant. Eine deutliche Assoziation mit rs3730358 und rs3730358 beinhaltenden Haplotypen des AKT1-Gens wurde bestätigt. Diese befanden sich alle im gleichen Bereich des Gens wie in den Untersuchungen von Emamian et al. (2004) (s. Tab. 13).

Bajestan et al. untersuchten 2006 fünf SNPs iranischer Probanden und zeigten hierbei einen Haplotyp, der signifikant häufiger bei an Schizophrenie erkrankten Testpersonen vorkam.

In einer Untersuchung chinesischer Schizophreniekranker wurde ein positiver Zusammenhang mit rs2803300 sowohl bei *early-onset*- als auch bei *late-onset*-Manifestationen gezeigt (Xu et al., 2007).

Fall-Kontroll-Studien an Japanischen Patienten von Ikeda et al. 2004 ergaben einen Assoziation des rs2494732- und rs2494732-beinhaltenden Haplotypen des AKT1-Gens, aber

nicht von rs3730358, wohingegen Untersuchungen von Ohtsuki et al (2004) und Ide et al. (2006) an einer vergleichbaren Bevölkerungsgruppe diesen Zusammenhang nicht bestätigen konnten. Ide et al. berichteten 2006 sowohl über genetische als auch über Proteinexpressionsanalysen. Hierbei war keine Replizierbarkeit veränderter AKT-Spiegel in Lymphozyten japanischer Patienten gegeben und auch Analysen von GSK3 β in den Gehirnen und Lymphozyten Betroffener konnten die Ergebnisse von Emamian et al. (2004) nicht bestätigen. Ebenfalls konnte keine Assoziation der fünf erstuntersuchten SNPs in einer Studie der taiwanesischen Bevölkerung durch Liu et al. (2006) gezeigt werden.

Norton et al. 2007 schlussfolgerten nach der Untersuchung von zehn SNPs, allein oder in Form von Haplotypen, an 673 Schizophrenieerkrankten und 716 Kontrollen, dass allenfalls ein sehr schwacher Zusammenhang zwischen AKT1 und dem Risiko zu erkranken besteht.

2.3.1 Fetale Hypoxie und AKT1 in der Schizophrenie

Das Auftreten perinataler Komplikationen ist im Vergleich zur Gesamtbevölkerung bei Schizophrenieerkrankten höher (Joo et al., 2009, O'Callaghan, 1992, Preti et al., 2000).

Ernsthafte geburtsassoziierte Schwierigkeiten scheinen über den dadurch bedingten Sauerstoffmangel und über Wechselwirkungen mit genetischen Faktoren das Erkrankungsrisiko zu erhöhen (Cannon et al., 2000, 2002, O'Callaghan et al., 1992, Schmidt-Kastner et al., 2006).

Vor allem die entstehende Hypoxie und eventuell die dadurch bedingte Induktion apoptotischer Vorgänge trägt zu Entwicklungsstörungen und damit zu Dysfunktionen des fetalen Gehirns bei. Etwa die Hälfte der Gene, die mit der Schizophrenieentstehung in Verbindung gebracht werden, scheint mit Ischämie und Hypoxie in Zusammenhang zu stehen. (Kietzmann et al., 2001, Schmidt-Kastner et al., 2006, Zhu et al., 2006)

In einer 2009 veröffentlichten Assoziationsstudie von Joo et al. wurde untersucht, ob sieben SNPs des AKT1-Gens Einfluss auf geburtshilfliche Komplikationen bei schizophrenen Patienten hatten. Joo et al. (2009) beschäftigten sich mit der Untersuchung von über hundert koreanischen erkrankten Patienten beider Geschlechter mit nach DSM-IV gestellter Diagnose. Hierbei wurde fremdanamnestic retrospektiv der Aspekt der geburtshilflichen Komplikationen erfragt, der in früheren Studien einen Risikofaktor für die Erkrankung darstellte.

Dieser Risikofaktor wurde mit Hilfe der Lewis-Skala klassifiziert, welche unter anderem Blutgruppenunverträglichkeiten, Infektionen mit Röteln und Syphilis, schwangerschafts-

2 Einleitung

assoziierten Bluthochdruck, perinatale Blutungen und Entbindungsart erfasst (Joo et al., 2009).

In der Gesamtschau war kein Zusammenhang erkennbar, jedoch wurde eine Assoziation zwischen den SNPs rs2498804 und rs1130233 und geburtshilflichen Komplikationen für weibliche Schizophreniepatienten gezeigt. Die Tatsache, dass dieses Ergebnis nur bei den weiblichen Probanden zu beobachten war, lässt geschlechtsspezifische Unterschiede bei durch Sauerstoffmangel bedingten Hirnschädigungen vermuten. (Joo et al., 2009, Zhu et al., 2006)

Die Studie von Nicodemus et al. (2008) zeigt die Wechselwirkung zwischen ernsthaften perinatalen Komplikationen und sauerstoffmangelbedingt gefäßexprimierten Genen in Bezug auf die Schizophrenieentstehung auf. Hierbei konnte ein signifikanter Zusammenhang für die Gene AKT1, BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*), GRM (*Glutamate Receptor Metabotropic*) und DTNBP1 (*Dystrobrevin Binding Protein 1*) mit entsprechenden Umweltfaktoren gezeigt werden (Joo et al., 2009, Nicodemus et al., 2008).

Des Weiteren wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine reduzierte Aktivität im PI3K/AKT-Signalweg das Gehirn anfälliger für virale Infektionen, Sauerstoffmangel und perinatale Infektionen macht (Kalkman, 2006, Joo et al., 2009).

2.3.2 AKT1-Expression in spezifischen Hirnregionen

Als die zwei Gehirnregionen mit dem größten ätiopathogenetischen Zusammenhang zur Schizophrenie werden in der Literatur der Präfrontale Kortex und der Hippokampus genannt (Balu et al., 2012, Harrison, 2004, Lewis und Gonzales-Burgos, 2008) (s. Abb. 7).

Während die physiologischen Funktionen des Hippokampus in der konditionierten Angst und dem assoziativen Lernen liegen, erfüllt der Präfrontale Kortex emotionale und regulatorische Aufgaben. Beide Bereiche gehören zum limbischen System und haben enge Verbindungen zu den Amygdala (Mahan und Ressler, 2012) (s. Abb. 7).

Eine Untersuchung von Tan et al. (2008) zeigte eine genetische Variante im AKT1-Gen, die die Proteinexpression in menschlichen B-Lymphoblasten und einige im Zusammenhang mit dem dopaminergen Signaltransduktionssystem stehenden Messparameter beziehungsweise Charakteristika des Gehirns beeinflusste, so zum Beispiel Morphologie, Physiologie und kognitive Funktionen des Präfrontalen Bereichs. Weiter kam es zu Funktionsänderungen der Catechol-O-Methyltransferase und hierdurch zu Modifikationen im Dopaminsystem. Diese Abweichung ging mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für Schizophrenie einher. (Tan et al., 2008)

Glykogensynthasekinase-3-Isoformen gehören zu den gut untersuchten Substraten von AKT (Beaulieu, 2012). Kozlovsky et al. vermuteten 2002, dass eine reduzierte GSK3 β -Aktivität zur Krankheitsentstehung beitragen könnte, da postmortale Gehirne reduzierte GSK3 β - und AKT-Proteinspiegel aufwiesen. Diese reduzierten GSK3 β -Spiegel konnten in den Untersuchungen von Beasley et al. (2002) allerdings nicht bestätigt werden. Nach Vadlakonda et al. (2013) besteht auch die Möglichkeit, dass AKT-Kinasen unabhängig von PI3K aktiviert werden. Dies könnte einen Nutzen im Rahmen diätetischer Einschränkungen mit sich bringen, bei denen die Signalgebung via Insulin/*Insulin Growth Factor* verändert ist (Vadlakonda et al., 2013a).

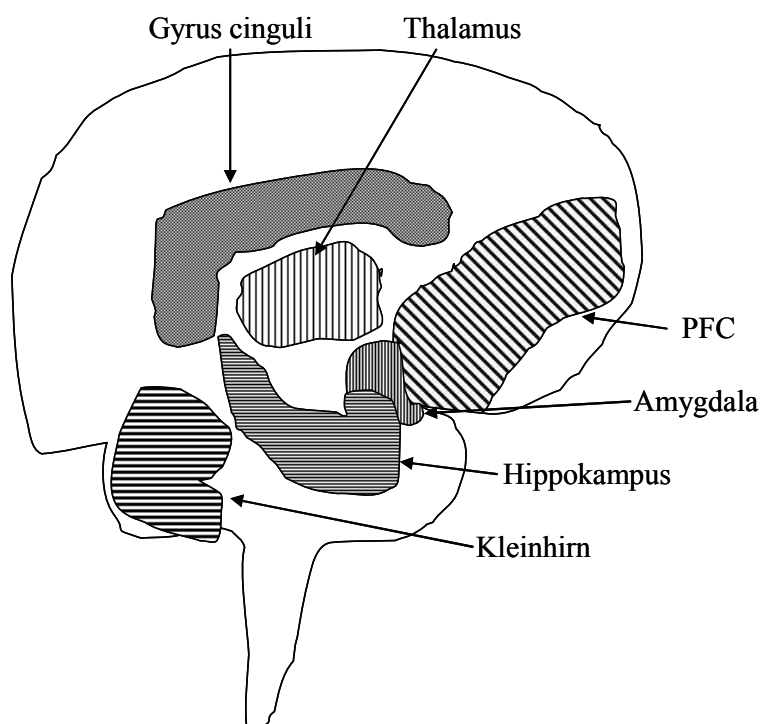


Abbildung 7: schematische Darstellung der Lage einzelner Gehirnteile (modifiziert nach Mahan und Ressler, 2012)

2.3.2.1 AKT1 im Praefrontalen Kortex

Eine Vielzahl von in vivo-Analysen und postmortalen Untersuchungen lässt vermuten, dass der Präfrontale Kortex eine entscheidende Rolle in der Schizophrenieentwicklung spielt (Barch et al., 2001, Bunney und Bunney, 2000, Davis et al., 2003, Goldman-Rakic und Selemon, 1997, Mirnics, 2001).

Betroffene zeigen teils charakteristische kognitive Beeinträchtigungen verschiedener Art und unterschiedlichen Ausmaßes, zum Beispiel im Bereich des Arbeitsgedächtnisses (Arnsten und Li, 2005, Castner et al., 2004, Green et al., 2004, Lai et al., 2006).

2 Einleitung

In einem tierexperimentellen Ansatz von Lai, et al. wurde im Jahr 2006 untersucht, ob ein Mangel an AKT1 morphologische und funktionelle Veränderungen im Präfrontalen Kortex (PFC) bedingte. Es wurde aufgezeigt, dass sich die Expression entsprechender Gene, die synaptische Aktivitäten, neuronale Entwicklung, Myelinisierung und Aktinpolymerisierung kontrollieren und die Struktur von Neuronen veränderte (Jaworski et al., 2005, Qin et al., 2005, Scheid und Woodgett, 2001, Tolias et al., 2005, Wang et al., 2003).

In Verhaltensanalysen wurde festgestellt, dass sich die Mäuse, die einen AKT1-Mangel aufwiesen, kognitive PFC-abhängige Aufgaben normal aneigneten. Jedoch ließen die Ergebnisse vermuten, dass es zur abnormalen Speicherung im Arbeitsgedächtnis unter neurochemischer Anregung von Transmittersystemen kam. In früheren Untersuchungen wurde gezeigt, dass die ZNS-Systeme, die das Arbeitsgedächtnis steuern (zum Beispiel PFC) sehr sensibel auf Änderungen des neurochemischen Milieus reagieren. Diese Modifikationen des Mikromilieus können durch genetische und umweltbedingte Regulatoren bedingt sein. (Green et al., 2004, Lai et al., 2006, Robbins, 2000)

So könnte sich, ausgelöst durch ein Zuwenig an AKT1, die Reaktionsfreudigkeit des ZNS in Bezug auf die Neurotransmitter verändern. Die AKT1-Mangelmutante verursachte im Mausmodell Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Wechselwirkungen, die die Funktion des Präfrontalen Kortex veränderten und korrelierte entsprechend in klinischen Studien mit dem Krankheitsrisiko und der Schwere der klinischen Symptome. (Lai et al., 2006)

2.3.2.2 AKT1 im Hippokampus

Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der Schizophrenie und hippokampalen Veränderungen lieferten Ergebnisse postmortaler Gehirnuntersuchungen. Hier zeigten Schizophreniepatienten deutlich verringerte Mengen an phosphoryliertem AKT in den hilären Neuronen des Gyrus dentatus und des Hippokampus (Balu et al., 2012). In der entsprechenden Studie wurde an AKT1-defizienten (*knockout*) Mäusen die Beziehung zwischen dem Gen und Funktionen des Hippokampus untersucht, die teils mit schizophrenen Symptomen assoziiert schienen. Eine AKT1-Defizienz führte zu einer beeinträchtigten proliferativen Kompetenz von hippokampalen Vorläufern. Im Hippokampus befinden sich einige der wenigen Gehirnregionen, die lebenslang Neuronen bilden können. Diese Fähigkeit ist essentiell für die Neuroplastizität. (Balu et al., 2012, Balu und Lucki, 2009)

Eine funktionierende hippokampale Neurogenese scheint Grundlage der Langzeitpotenzierung zu sein (Balu et al., 2012, Saxe et al., 2006). Die AKT1-Mangelvariante beeinträchtigte die Langzeitpotenzierung, da diese eine Aktivierung des PI3K/AKT-

2 Einleitung

Signalweges voraussetzte (Balu et al., 2012). Die Ergebnisse weisen auf einen Zusammenhang zwischen diesem Teil des Gehirns und der Neuroplastizität allgemein hin. Die *knockout*-Tiere zeigten auch Veränderungen in kontextabhängiger Furcht und dem Abruf von räumlichem Lernen und Denken, der Präpulsinhibition (Hemmung der physiologischen Folge-Schreckreaktion durch einen vorhergegangenen Reiz). Eine solche Veränderung der akustischen Schreckreaktion wurde als charakteristisch für die Schizophrenie beschrieben (Balu et al., 2012, Wittchen und Hoyer, 2011).

2.3.4 Medikamentöse Beeinflussung

Für einige psychoaktive Medikamente wurde gezeigt, dass sie in den AKT-GSK3-Signalweg eingreifen. SSRI (*Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*) und MAO-Hemmer (Monoaminoxidasehemmer) hemmen in vivo GSK3-Isoformen, indem sie die synaptische Transmission von 5-HAT (5-Hydroxytryptamin, Serotonin) erhöhen (Beaulieu et al., 2009, Li et al., 2004, Li und He, 2007).

Im Gegensatz dazu wird die hemmende Phosphorylierung von GSK3 β durch erhöhte Dopamintransmission, etwa als Reaktion auf die Gabe von Amphetaminen, reduziert (Beaulieu, 2007, Beaulieu et al., 2004, Polter et al., 2010).

Lithium greift am AKT/GSK3 β -Signalweg an und auch andere Medikamente, die standardmäßig in der Schizophreniebehandlung eingesetzt werden, wie Haloperidol, fördern in vivo die AKT-Signalgebung (Balu et al., 2012, Emamian et al., 2004).

Für langfristig mit Haloperidol behandelte Mäuse wurde beschrieben, dass klassische Antipsychotika D2-Rezeptoren blockieren und so unter anderem die Hemmung von AKT und damit die Aktivierung von GSK3-Isoformen verhindern (Beaulieu, 2012, Emamian et al., 2004).

3. FRAGESTELLUNG

Bisher konnten die genauen ätiopathogenetischen Faktoren der Schizophrenie noch nicht aufgeklärt werden. Sicher scheint jedoch eine nicht unerhebliche Beteiligung genetischer Ursachen, die neben den Umweltfaktoren das Risiko einer Erkrankung erhöhen. In den vergangenen Jahren wurden im Rahmen der Schizophrenieforschung viele Abschnitte des Genoms untersucht und neue Erkenntnisse gewonnen. Hierzu scheinen vor allem Fall-Kontroll-Assoziationsstudien geeignet, da sie im Stande sind sehr selektiv Gene zu detektieren, die möglicherweise das Erkrankungsrisiko auch nur in einem geringen Ausmaß erhöhen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem potentiellen Einfluss von sechs SNPs des Gens AKT1 auf ein möglicherweise erhöhtes Erkrankungsrisiko. Das AKT1-Gen liegt auf Bande q32 des Chromosoms 14. Eine Kopplung dieses Bereichs mit einem erhöhten Risiko zu erkranken wurde in mehreren Assoziationsstudien nachgewiesen, die unterschiedliche SNPs an Testgruppen verschiedener ethnischer Zugehörigkeit überprüften. Diese ergaben teils differierende Ergebnisse, lieferten jedoch zu einem Großteil Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der Schizophrenie und AKT1.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden sechs Varianten (rs1132975, rs2494732, rs1130233, rs3730358, rs2494743 und rs24947) an einer kaukasischen Stichprobe, bestehend aus 1386 Kontrollpersonen und 513 an Schizophrenie erkrankten Patienten mittels iPLEX genotypisiert und im Hinblick auf eine Assoziation überprüft, da bisherige Veröffentlichungen widersprüchliche Resultate ergaben. Es wurden Genotyp- und Allelfrequenzen verglichen.

4. MATERIAL UND METHODEN

4.1 Voraussetzungen zur Studienteilnahme

Alle untersuchten Personen erklärten sich freiwillig bereit, an der Erhebung der Daten und der Durchführung der Analysen teilzunehmen. Im Vorfeld war das Studiendesign durch die lokale Ethikkommission geprüft und zugelassen worden. Jeder Teilnehmer wurde zu Beginn in einem persönlichen Gespräch ausführlich über die Intention, das Prinzip und die Durchführung der Untersuchungen aufgeklärt. Das Einverständnis wurde schriftlich dokumentiert und war jederzeit ohne die Angabe von Gründen widerrufbar. Die Proben und Daten aller getesteten Personen wurden anonymisiert weiterverarbeitet.

4.2 Gewinnung der Daten

Die vorliegende Dissertation wurde im Rahmen einer Assoziationsstudie zur Untersuchung der Auswirkung diverser genetischer Veränderungen an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München in der Arbeitsgruppe für Molekulare und Klinische Neurobiologie von Prof. Dr. Dan Rujescu durchgeführt. 1386 gesunde und 513 erkrankte Testpersonen wurden rekrutiert, anamnestiziert, die klinischen Befunde ausgewertet und das Material für die Blutuntersuchungen gewonnen.

Das eigene Aufgabengebiet während der Mitarbeit in der Arbeitsgruppe, welche sechs Monate in Vollzeit betrug, umfasste vorrangig die Durchführung der circa vierstündigen klinischen Interviews mit etwa 50 der schizophrenen Patienten der Studiengruppe. Neben der ausführlichen Anamnese stand dabei die Erhebung der *Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia* (PANSS; Kay et al., 1987) im Vordergrund. Diese Befunde flossen mit den durch andere Doktoranden gewonnenen Daten zusammen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde auch auf Daten dieses Fonds zum Beispiel in Bezug auf die Angaben zu den als Kontrollen verwendeten Testpersonen zugegriffen. Darüber hinaus gehörte es zu den Aufgaben, weitere Patienten telefonisch zu rekrutieren und aufzuklären, die gewonnenen Daten zu digitalisieren und die bestehenden Datenbanken zu aktualisieren und auszuwerten.

Die standardisierte Befragung des einzelnen Patienten erstreckte sich jeweils über etwa 240 Minuten. In diesem Rahmen wurde nach dem Schema von SKID1 und SKID2 (strukturiertes klinisches Interview nach DSM-IV) und der PANSS vorgegangen (First et al., 1996, 1997, Fydrich et al., 1997, Kay et al., 1987, Wittchen et al., 1997). Diese stellen halbstrukturierte klinische Befragungen mit großer Reliabilität dar (Segal et al., 1994, Skre et al., 1991).

Die gewonnenen Proben wurden im Rahmen der im Folgenden beschriebenen Laborverfahren verarbeitet.

4.3 Studienteilnehmer

Untersucht wurde ein Gesamtkollektiv von 970 männlichen und 929 weiblichen Personen, 513 davon waren an Schizophrenie erkrankt, 1386 gesund. Das Durchschnittsalter lag bei 44+/-15 Jahren. 540 Personen hatten einen niedrigen, 609 einen mittleren und 750 einen hohen Bildungsgrad. Eine genauere Aufschlüsselung zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Gegenüberstellung der Charakteristika der Studienteilnehmer

	Schizophrenie			Kontrolle			Gesamt		
Alter (a) Mittelwert+/- Standart- abweichung	37,7+/-11,4			46,4+/-15,7			44,0+/-15,1		
Geschlecht	M 334	W 179		M 636	W 750		M 970	W 929	
Bildungsgrad	Niedrig 224	Mittel 139	Hoch 150	Niedrig 316	Mittel 470	Hoch 600	Niedrig 540	Mittel 609	Hoch 750
n (gesamt)	513			1386			1899		

Der jüngste Proband war 18, der älteste 79 Jahre alt. Die Klassifikation des Bildungsgrades erfolgte nach dem höchsterreichten Schulabschluss der Probanden. (Zuordnungen: niedrig=Hauptschulabschluss, mittel=Realschulabschluss, hoch=Abitur). m=männlich, w=weiblich

4.3.1 Kontrollen

Um die Ergebnisse aus den Untersuchungen an Schizophrenie erkrankter Patienten mit einem Kontrollkollektiv zu vergleichen, war es nötig eine Gruppe ausreichender Fallzahl zu rekrutieren. Diese setzte sich aus deutschstämmigen Kontrollpersonen beiden Geschlechts (45,9% m, 54,1% w) mit blander psychiatrischer und neurologischer Anamnese in der Altersgruppe 19-79 Jahre (Durchschnittsalter: 46,4 Jahre) zusammen. Dies geschah schrittweise mit einer Abfolge von Ausschlussverfahren. Mittels Informationen des Einwohnermeldeamtes wurden per Zufall Personen aus dem Großraum München angeschrieben, über Ziele und Inhalte der Studie in Kenntnis gesetzt und um ihre Teilnahme gebeten. Erklärten sich diese einverstanden, folgte eine standardisierte telefonische Befragung, um eine eventuelle neuropsychiatrische Morbidität der Probanden und ihres erstgradig verwandten familiären Umfeldes abzuklären. Bei weiterhin unauffälliger Krankengeschichte und dem Fehlen weiterer Ausschlusskriterien wie zum Beispiel

Suizidalität oder einer bestehenden Suchtanamnese wurde eine zweigeteilte schriftliche Anamnese durchgeführt. Hierbei wurden personenbezogene biographische Allgemeindaten wie Lebenslauf, ethnische Zugehörigkeit, geburtshilfliche Komplikationen und privates sowie berufliches Umfeld abgefragt. Darüber hinaus wurde noch einmal eigen- und familienanamnestisch explizit auf Vorerkrankungen körperlicher wie psychischer Art eingegangen. Von übergeordnetem Interesse hierbei waren Suchterkrankungen, Suizidalität, Panik- und Angststörungen, affektive Störungen und Krankheitsbilder aus der Gruppe der Schizophrenie sowie deren stationäre wie ambulante Behandlung in der Vergangenheit.

Im Anschluss hieran wurde die standardisierte persönliche Befragung der Testpersonen mittels Achse 1 und 2 des SKID vor Ort in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie durchgeführt (Fydrich et al., 1997, Wittchen et al., 1996, 1997). Über die Achse 4 können psychosoziale Belastungsfaktoren erfasst und über Achse 5 das globale Funktionsniveau analysiert werden. Im Anschluss daran wurden anhand des FHAM (*Family History Assessment Module*) psychiatrische Krankheitentitäten erstgradig Verwandter des Probanden abgefragt (Rice et al., 1995).

Der nächste Schritt war die Durchführung einer strukturierten Befragung mit Hilfe des LEBI (Leibziger Ereignis- und Belastungsinventar) (Richter und Guhtke, 1996).

Eine positive psychiatrische oder neurologische Familien- sowie Eigenanamnese und das Vorhandensein relevanter kritischer Lebensereignisse (Störungen von Achse eins oder zwei *lifetime*) führten zum Ausschluss aus der Studie ebenso wie kognitive Einschränkungen (bei Patienten über 60 Jahre Mini Mental Status < 26; IQ < 80 im HAWIE-R) (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Form), und eine Rücknahme der Einwilligung.

Nach Durchführung aller oben beschriebenen Schritte und damit der Erfüllung aller Einschlusskriterien bestanden keine Einwände gegen eine Teilnahme an der Studie.

4.3.2 Erkrankte Studienteilnehmer

Die Studiengruppe an Schizophrenie erkrankter Personen kaukasischer Abstammung wurde aus dem Patientenkollektiv der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München und umliegender Krankenhäuser rekrutiert. Auch diese wurden telefonisch kontaktiert, über Ziele und Prinzipien der Studie informiert und um eine Teilnahme an der Untersuchung gebeten. Hier waren ebenfalls alle Zustimmungen auf freiwilliger Basis. Bedingung für eine Teilnahme war darüber hinaus ein aktuell weitgehend stabiler Zustand im Rahmen einer sicher diagnostizierten Schizophrenie. So war es notwendig, im Vorfeld sowohl andersartige psychiatrische Störungen wie schizoaffective Erkrankungen, durch

Suchterkrankungen bedingte Psychosen und auch internistische, neurologische, chirurgische und infektiöse Kausalitätszusammenhänge auszuschließen. Erfüllten die Erkrankten diese Voraussetzungen wurde im Rahmen eines persönlichen Gesprächs in der Klinik oder in der häuslichen Umgebung des Patienten eine zweigeteilte standardisierte diagnostische Befragung durchgeführt. Wie auch in der Kontrollgruppe wurden hierbei ein mögliches Suchtverhalten, die aktuelle Lebenssituation, biographische Eckpunkte, auffälliges Verhalten, belastende Lebensereignisse und sozialer Hintergrund erfragt. Es war wichtig die Krankengeschichte inklusive früherer Diagnosen und bisheriger Therapien des Patienten sowie seiner Familienangehörigen bis zum dritten Grad zu dokumentierten.

Wie bei der Kontrollgruppe wurde im Anschluss dieser Anamnese ein Interview nach SKID1 durchgeführt und auf diesem Wege die Diagnose der Schizophrenie nochmals geprüft. Es bestand dadurch die Möglichkeit, die Krankheitsform des Patienten bezogen auf Verlauf, Erstmanifestation, Subtyp, Verschlechterungen in der Krankheitsgeschichte, Verlaufsmuster, Frequenz, Schweregrad, Begleiterkrankungen, Prodromal- und Residualzustände genauer zu charakterisieren. Leistungsfähigkeit, Anpassung und Funktionsstand des Patienten wurden mit Hilfe der GAS (*Global Assessment Scale*, Achse 5 des DSM-IV) eingeschätzt, die Patienten wurden gezielt nach Beeinträchtigungen im sozialen und beruflichen Umfeld gefragt und bezogen auf ihre allgemeine Leistungsfähigkeit mit einem Wert zwischen null und hundert Punkten bewertet. So wurde versucht den individuellen Stand des betroffenen Einzelnen zwischen voller Gesundheit und maximaler Krankheitsausprägung einzuschätzen, indem einerseits der aktuelle Status, andererseits die schlechteste Phase im Krankheitsverlauf miteinbezogen wurde (Endicott et al., 1976). Insgesamt wurden so 513 von Schizophrenie betroffene kaukasische Personen im Alter von 18 bis 70 Jahren (Durchschnitt 37,73 Jahre) eingeschlossen, wovon 65,11% männlich und 34,89% weiblich waren.

4.4 Laborverfahren

Alle beschriebenen labortechnischen Untersuchungen wurden nach bestehenden Protokollen in der Sektion für Molekulare und Klinische Neurobiologie der LMU München ausgeführt. Die verwendeten Materialien sind inklusive ihrer Anwendung und ihrer Bezugsquelle in der Tabelle 7 aufgelistet.

4.4.1 Bezugsquellen der verwendeten Materialien und Geräte

Tabelle 7: Aufstellung der verwendeten Materialien und Geräten inklusive ihrer Bezugsquellen und ihrem Verwendungszweck

DNA-Extraktion

Bezeichnung	Funktion/Verwendung	Bezugsquelle
EDTA Monovette	Gewinnung der Blutproben, DNA-Extraktion	Sarstedt, Deutschland
PBS-Puffer, phosphate buffered saline	Resuspendierung, Verdünnung, DNA-Extraktion	Carl Roth, Deutschland
Qia Amp DNA blood Maxi Kit	Pufferung/Reinigung, DNA-Extraktion	Qiagen, Deutschland
Ethanol Rotipuran >99,8% p.a.	Hydrathüllenentfernung DNA, DNA-Extraktion	Carl Roth, Deutschland

Universell eingesetzte Geräte und Materialien

Bezeichnung	Funktion/Verwendung	Bezugsquelle
Explorer; Precisa 5804	Waage	Ohaus Corporation, USA; PRECISA Instruments AG, Schweiz
Janus automated workstation	Pipettierroboter	Perkin Emer, USA
Konische PP-Röhrchen, 50ml	Zentrifugation, DNA-Konzentrationsbestimmung, Eluatsammlung	Sarstedt, Deutschland
Vortex Genie	Mischung, Vortexen	Scientific Industries, USA
TRIS-EDTA	Verdünnung	Sigma-Aldrich, USA
Wallac 1420 Workstation Software Optiplex GX620 Pentium 4HT	Steuerrechner für Pipettierroboter	Perkin Elmer, USA; Dell, Deutschland
WB14	Wasserbad, Inkubation	Memmert Deutschland

4 Material und Methoden

iPLEX/PCR

Bezeichnung	Funktion/Verwendung	Bezugsquelle
iPLEX Buffer Plus iPLEX Enzyme iPLEX Termination Mix	Extension	Sequenom, USA
Clean Resin; Dimple Plates	Entsalzung	Sequenom, USA
Gene Amp PCR System 9700	Durchführung PCR und allen weiteren spezifischen Heizschritten	Applied Biosystems, life Technologies, Deutschland
Multimek Pipettierroboter	Pipettierroboter	Beckmann Coulter, USA
MassARRAY Nanodispenser	Übertragung des Extensionsprodukts auf MALDI-Probenträger	Sequenom, USA
Thermo Fast 384 well plate	384er Mikrotiterplatten für PCR Abgene, Deutschland	
dNTP Mix (je 500nM)	PCR	Abgene, Deutschland
SpectroChips	Probenträger	Sequenom, USA
Microlab 4000	Pipettierroboter	Hamilton, USA
Shrimp alkaline phosphate SAP; SAP-Behandlung SAP-Puffer		Sequenom, USA

MALDI-TOF

Bezeichnung	Funktion/Verwendung	Bezugsquelle
Autoflex Massenspektrometer	MALDI-TOF	Bruker Daltonics, Deutschland
FlexControl	MALDI-TOF	Bruker Daltonics, Deutschland
MassArray MALDI-TOF MS	Massenbestimmung	Sequenom, USA
MNL 200 Stickstofflaser	MALDI-TOF	LTB Laser Technik, Deutschland
Nitrogen Generator	Stickstoff für Laser	Parker Balston, England
3 Point Calibrant	Massenspektrenkalibrierung	Sequenom, USA
RT Workstation 3.4, Chiplinker	Verlinkung Daten	Sequenom, USA
Spectro Aquire 3.3.1.3	Steuerung MALDI	Sequenom, USA
Spectro CHIP bioarray	Siliziumchip für MALDI	Sequenom, USA
SpectroTarget	Träger für chips	Sequenom, USA
TYPHER Analyzer 3.3.0 Software	MALDI-TOF	Sequenom, USA

DNA-Konzentrationsbestimmung

Bezeichnung	Funktion/Verwendung	Bezugsquelle
Human genomic DNA 100 ng/ µl	Verdünnung	Clontech, USA
Flat Bottom Plate Black 96 well	DNS-Vorlage	Greiner, Deutschland
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	DNS-Fluoreszenzmessung	Invitrogen, Deutschland
Victor 3 Multilabel Counter	Fluoreszenzmessgerät, DNA-Konzentrationsbestimmung	Perkin Elmer, USA

4.4.2 Vorbereitung der Blutproben

Die Grundlage der Analysen bildeten die entnommenen venösen Vollblutproben. Sie wurden zu Anonymisierungszwecken kodiert. In den gerinnungshemmenden EDTA-Monovetten wurden 7ml Vollblut bei 3000 Umdrehungen/Minute für insgesamt 10 Minuten zentrifugiert. Der Plasmaüberstand wurde abgenommen und bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert. Der abzentrifugierte Blutkuchen wurde mit einfach PBS aufgeschwemmt und auf ein Volumen von 10ml aufgefüllt.

4.4.3 DNA-Extraktion und Konzentrationsbestimmung

Um die DNA mittels PCR zu vervielfältigen und das iPLEX-Verfahren anzuwenden, war es eine Voraussetzung, sie im Vorfeld zu isolieren, das heißt sie von anderen Bestandteilen wie Nukleasen, Proteinen und RNA abzutrennen. Angewandt wurde hierfür der *QIAmp DNA Blood Maxi Kit* nach dazugehörigem Extraktionsprotokoll, bei dem mittels des chaotropen Guanidiumhydrochlorid-Puffers AL Proteine denaturiert werden (Qiagen, 2005). Die DNA-Hydrathülle wurde durch Zugabe von Ethanol entfernt, die DNA danach an eine Membran gebunden, gereinigt und im Anschluss von der Membran eluiert. Diese Schritte werden im Folgenden genauer erklärt. Nach Zugabe von 500µl Qiagen-Protease und 12ml Puffer AL wurde die vorbereitete Blutmischung eine Minute lang auf einem Vortexer gemischt. Es folgte eine halbstündige Inkubation der Mischung im Wasserbad (70°C). Nach der anschließenden Zugabe von Ethanol (10ml, >99%) wurde die Probe noch einmal zwei Minuten lang mit dem Vortexer gemischt, auf die Säule gegeben und drei Minuten lang bei 3000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Die Reinigung der an die Silikonmatrix gebundenen DNA von RNA und Proteinen beruht auf dem Prinzip, das diese im Gegensatz zu der DNA im gegebenen sauren Milieu nicht an der Membran gehalten werden und sich weiterhin gelöst im verworfenen Filtrat befinden. Weiter wurden die Waschpuffer AW1 (5ml; Wirkung gegen RNA- und Proteinkontaminationen) und AW2 (5ml; Guanidiumhydrochlorid wird ausgewaschen) zugegeben. Zwischen den Waschgängen wurde die Probe zwei Minuten und im Anschluss daran 15 Minuten lang mit 4000 bis 5000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Durch die anschließende Zugabe des basischen Puffers AE (1,5ml; pH>9) und Inkubation für fünf Minuten bei Raumtemperatur gefolgt von einer Zentrifugation (5000 Umdrehungen/Minute für zwei Minuten) kam es zu Elution der DNA von der Membran, da diese nun im basischen Milieu nicht mehr fest an der Silicaoberfläche band. Im Anschluss

4 Material und Methoden

daran wurde die Probe, in der die DNA nun in einer Konzentration zwischen 50 und 150ng/μl vorlag, in Mikroschraubröhrchen (2,0ml) bis zur Weiterverarbeitung im Tiefkühlschrank (-80°C) aufbewahrt.

Der erste Schritt der sich anschließenden Konzentrationsbestimmung war die Herstellung einer Standardverdünnungsreihe. Hierbei wird, ausgehend von der bekannten Konzentrationen einer humanen genomischen DNA (Clontech), mit destilliertem Wasser eine 1:2 Verdünnungsreihe aus acht Punkten hergestellt (100ng/μl, 50ng/μl, 25ng/μl, 12,5ng/μl, 6,25ng/μl, 3,125 ng/μl, 1,562ng/μl, 0ng/μl).

5μl der Proben-DNA unbekannter Konzentration wurde unter Zugabe von 45μl destilliertem autoklaviertem H₂O (1:10) vorverdünnt, damit ihre Konzentration innerhalb der Standardwerte der Eichkurve lag.

Mittels des fluoreszierenden, selektiv an doppelsträngige dsDNA-bindenden *PicoGreen*-Farbstoffs ist es möglich ausschließlich dsDNA ab einer Menge von 25pg/ml zu detektieren selbst wenn sich RNA, ssDNA (Einzelstrang-DNA) oder ungebundene Nukleotide im Reaktionsgemisch befinden (Invitrogen, 2014).

Der Fluoreszenzfarbstoff wurde gefriergelagert, vor Verwendung 60Minuten bei Raumtemperatur unter Lichtabschluss erwärmt und mittels eines Puffers in einem mit Alufolie umwickelten Gefäß verdünnt (Tris-EDTA; Verhältnis 1:156). Da es schnell wieder zu einem Abfall der Fluoreszenz kommt, ist es wichtig diese sofort bei minimalem Lichteinfall zu messen.

Die nachfolgenden Verarbeitungsschritte führte die *Janus Automatet Workstation* (Perkin Elmer; USA) automatisch durch. Je 5μl der Standardverdünnungsreihe wurden in Duplikaten auf eine schwarze 96well-Messplatte mit flachem Boden in die ersten beiden Reihen (A1-H1 und A2-H2) pipettiert, die restliche Platte (A3-H12) mit Duplikaten aus je 5μl der vorverdünnten Proben-DNA aufgefüllt.

Zur Konzentrationsmessung wurde nun das *PicoGreen*-Reagenz zugegeben (145μl/well, Konzentration 1:200). Die Platte wurde nach diesem Bestückungsverfahren in das Messgerät transportiert (*Victor3 Multilabel Counter 1420*) und dort eine halbe Minute lang in Doppelelipsen geschüttelt. Um die DNA-Konzentration zu analysieren, muss das Fluoreszenzreagenz angeregt werden. Dies geschah mit einer Wellenlänge von 485nm, die Emission lag bei 535nm. Die Messung und die anschließende Berechnung der Konzentration erfolgten computergestützt (*Wallac 1420 Workstation*).

Die Menge des ausgesandten Lichts des Farbstoffs verhält sich zur DNA-Menge direkt proportional und kann darüber berechnet werden. Die Standardverdünnungsreihe bildet eine

Kurve, anhand derer die unbekannten DNA-Konzentrationen abgelesen werden können. Nachdem die Konzentrationen so bestimmt worden waren, wurden sie automatisch mittels eines Pipettierroboters an die Konzentration von 50ng/µl angepasst.

Die Proben wurden bis zur weiteren Verwendung im Rahmen der Hochdurchsatzgenotypisierung bei -80°C aufbewahrt.

4.5 Genotypisierung

Genotypisiert wurden im Rahmen dieser Dissertation mittels des iPlex-Verfahrens sechs SNPs des AKT1-Gens, rs1132975, rs2494732, rs1130233, rs3730358, rs2494743 und rs2494746.

Tabelle 8: Aufstellung der Charakteristika der untersuchten SNPs

SNP-ID	Chromosomale Position (GRCh38)	Allele	Position/Funktion im/zum Gen
rs1132975	104755700	C/T	3'Genregion
rs2494732	104772855	C/T	Intron 11
rs1130233	104773557	A/G	E242E/ Exon 9
rs3730358	104780070	C/T	Intron 3
rs2494743	104785383	C/T	Intron
rs2494746	104791382	C/G	Intron 2

(NCBI, 2014)

Zuerst wurden die den SNP flankierenden DNA-Sequenzen im Multiplexmaßstab mittels konventioneller PCR vervielfältigt.

Um spezifisch die DNA-Abschnitte von Interesse zu amplifizieren, wurden Primer angewandt, die in unmittelbarer Nähe der gesuchten SNPs liegen. Diese wurden um die der genomischen Sequenz komplementäre Base verlängert und anschließend die molekularen Massen der allelspezifischen Extensionsprodukte der Primer mittels *MassArray MALDI-TOF MS* (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Massenspektrometer*) bestimmt. So konnten die untersuchten SNP-Allele klar identifiziert und zugeordnet werden.

4.5.1 Design des Genotypisierungsassays

Die den entsprechenden SNPs zugeordneten Primer zeigt untenstehende Tabelle.

Tabelle 9: Sequenzen der Primer und die Fragmentlänge pro SNP

SNP-ID	Primer 1	Primer 2	Extensionsprimer	Fragmentlänge (bp)
rs1132975	ACGTTGGATGAG ACCAAGCGACTC CTGTTC	ACGTTGGATGTTT GGGGACTCTGGC AGGTG	gTGGGGACTCTGG CAGGTGAACGAC	114
rs2494732	ACGTTGGATGTTT CAGGGCTGCTCA AGAAG	ACGTTGGATGGG ATGAGGGGATGG AGGTGT	ATGGAGGTGTAG CCTG	103
rs1130233	ACGTTGGATGCA GCTGTTCTTCCAC CTGTC	ACGTTGGATGAC ACAATCTCAGCG CCATAG	CGGTCCTCGGAG AACACACG	96
rs3730358	ACGTTGGATGCA ACCCCCAAATCT GAATC	ACGTTGGATGTCA ACAACCTCTCTGT GGCG	CGTAAGTATCCCC TTGGC	85
rs2494743	ACGTTGGATGGC AGTGGATGTATTT CACCC	ACGTTGGATGAC ACAACGGAGGCC AGCTGA	cctAGGCCAGCTGA CCCCACT	89
rs2494746	ACGTTGGATGAG CTTCTGGCTCTGC TTCC	ACGTTGGATGAA CAAGCAGGGGAC AGCAC	tATGGAGAAGGCA GGATG	104

4.5.2 Konventionelle Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion wurde in den 80er Jahren des 20. Jahrhunderts von Kary Mullis entwickelt (Mullis, 1990, Mullis et al., 1986). Im Rahmen dieses Verfahrens wird in vitro eine Vielzahl von Kopien eines DNA-Abschnitts selektiv hergestellt. Dieser Vorgang beruht auf der Fähigkeit des Enzyms DNA-Polymerase ausgehend vom 3'OH-Ende einer vorhandenen Einzelstrangmatrize einen zweiten dazu komplementären Strang zu synthetisieren. Um die Verdopplung an jeder beliebigen Stelle starten zu können, sind Primer (synthetische Oligodesoxynukleotide in Form einer Einzelstrang-DNA mit einer Länge 20 bis 30 Nukleotiden) nötig. Sie sind komplementär zu einer kurzen Sequenz der Ursprungs-DNA und setzen das erste Nukleotid. Auf diese Weise stellen sie das benötigte 5'OH-Ende für die Polymerase.

4 Material und Methoden

Der verwendete PCR-Mastermix enthielt bereits DNA-Polymerase (0,1µl, 5U/µl), Puffer (0,625µl), MgCl₂ (0,1µl, 25mM), eine Primermischung (1,0µl, 500nM) und die entsprechenden dNTPs (0,1µl, 25mM).

Nach einer initialen Denaturierung bei 95°C für fünf Minuten folgten 45 Zyklen bei einer Denaturierung von 59°C für 20 Sekunden, Annealing der Primer bei 56°C für 30 Sekunden und Elongation bei 72°C für eine Minute. Nach einer abschließenden Elongation bei 72°C für drei Minuten wurden die Proben auf 12°C heruntergekühlt.

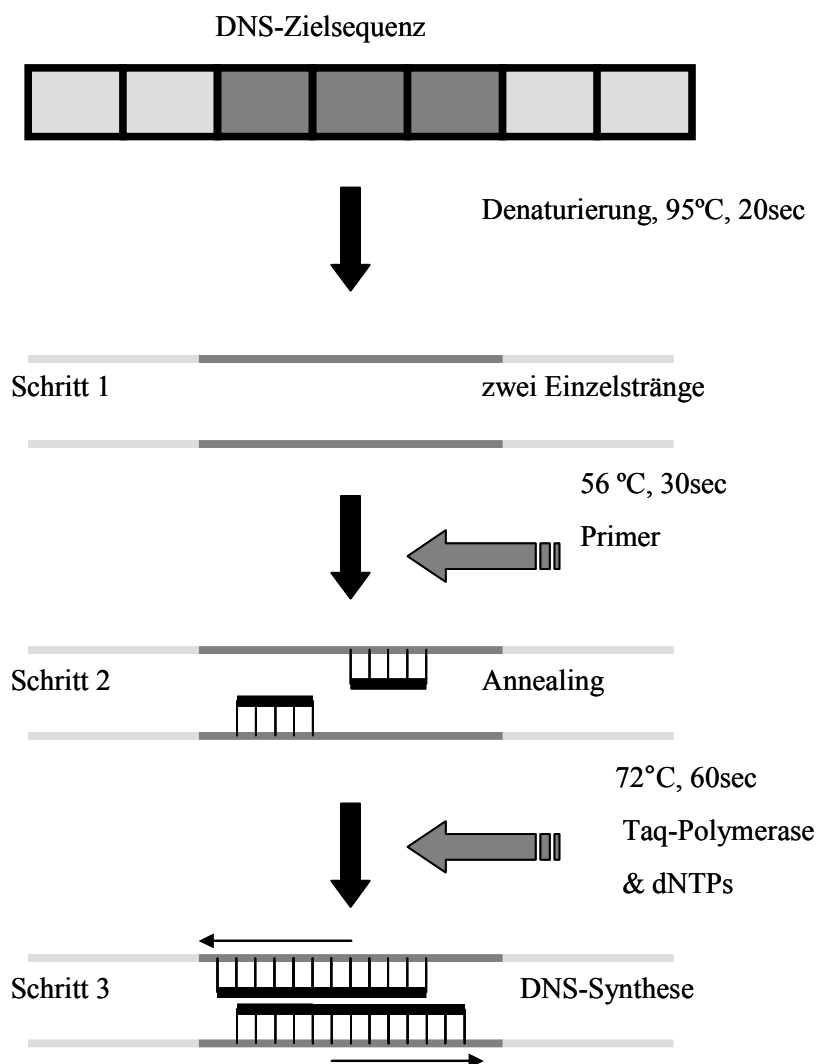


Abbildung 8: Ablauf der PCR

Dephosphorylierung, SAP

Nukleotidbausteine werden im Überschuss als ein Gemisch aus den Desoxynukleotidtriphosphaten Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin zugegeben. Eine mögliche unerwünschte Folge hieraus ist, dass überschüssige Nukleotide im späteren iPlex-

Verfahren die Extensionsreaktion stören, indem sie mit den modifizierten Nukleotiden um den Einbau konkurrieren. Um dies zu vermeiden, wurden die noch freien dNTPs durch Dephosphorylierung mittels SAP-Behandlung im Sinne einer Zugabe von 1,53µl autoklaviertem Wasser pro well, 0,3µl SAP (*Shrimp Alkaline Phosphatase*) und 0,17µl SAP-Puffer abgefangen. Das Untersuchungsmaterial wurde im Rahmen der Reaktion inkubiert (37°C, 40min) und das Enzym bei 85°C (10min) inaktiviert. Die Lagerung von PCR-Produkten fand bei 4°C statt.

4.5.3 iPlex-Extensionsreaktion

Es handelt sich um ein Verfahren zur Einzelbasenextension mit Hilfe von ddNTPs (Dideoxyribonukleosidtriphosphate). An die DNA-Sequenz von Interesse wird unmittelbar dem Polymorphismus vorgeschaltet ein Oligonukleotid-Primer angelagert. Im Anschluss kommt es analog der konventionellen PCR zu einer Verlängerung, allerdings mit dem Unterschied, dass die Polymerase hier nur eine einzelne Base anhängt, da die sie wegen der nicht vorhandenen 3'OH-Gruppe der ddNTPs am Weiterlaufen gehindert wird (Haff und Smirnov, 1997).

Den Produkten aus der vorangegangenen PCR wird eine iPLEX-Mischung zugesetzt.

Dieser iPlex-Mix enthält iPlex-Enzyme (0,04µl), Primermix (0,8µl, 7µM 14µM), iPlex-Puffer (0,2µl), autoklaviertes Wasser (0,76µl) und iPlex Abbruchmix (0,2µl).

Danach läuft die PCR analog zur klassischen Variante automatisiert in einem PCR-Gerät ab.

200 Zyklen werden in nachfolgendem Schema durchgeführt: 1. Zyklusschleife (40 Wiederholungen), 2. Zyklusschleife (untergeordnet, fünf Wiederholungen). Bei den 200 Zyklen bestehen vier von fünf Zyklen aus Annealing und Elongation, nur jeder fünfte Zyklus beinhaltet eine Denaturierung (s. Abb. 9).

Im Anschluss wird das entstandene Produkt entsalzt. Wasser und SpectroClean Resin (3mg) werden zugesetzt und die Probe wird zentrifugiert (4000 Umdrehungen/Minute, 10min). Es ist wichtig, den Ionenaustauscher Spectroclean hinzuzufügen, um kationenbedingte Artefakte in der Massenspektrometrie zu vermeiden.

Nach Durchführung dieser Schritte wurde das Produkt daraus mit dem MassARRAY Nanodispenser auf 3-HPA-beschichtete 384-Matrix-Siliziumchips (3-Hydroxypicolinsäure) (SpectroCHIP bioarray) übertragen.

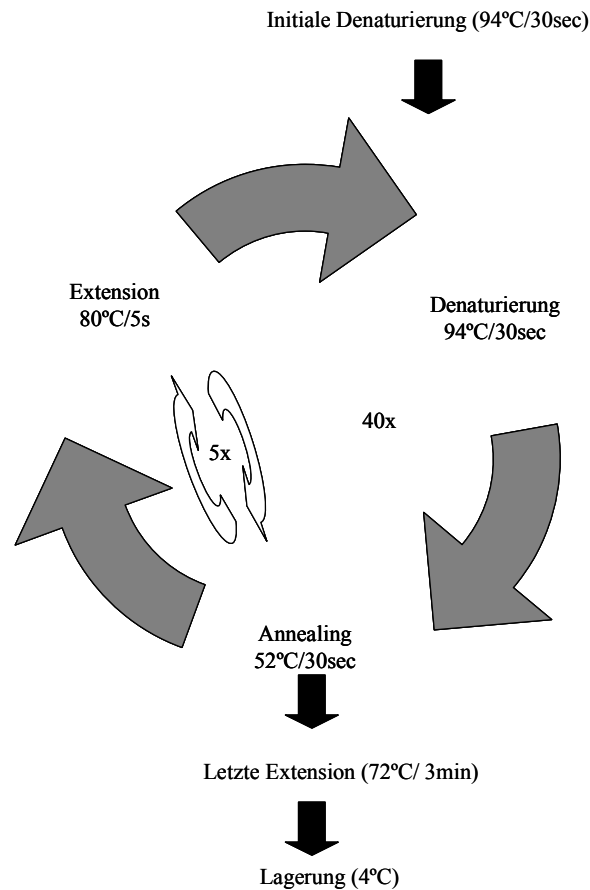


Abbildung 9: schematische Darstellung des iPlex-Verfahrens. Dicke Pfeile: übergeordnete Zyklusschleife, 40mal, dünne Pfeile: untergeordnete Zyklusschleife, 5mal

4.5.4 Massenspektrometrie

Die vorbereiteten Chips werden nun über eine Schleuse in das Massenspektrometer eingebracht. Die matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI)-Massenspektrometrie misst die Masse von Ionen im Hochvakuum. Sie stellt die weiterentwickelte Form der einfachen Massenspektrometrie dar. Das Prinzip dahinter ist eine Ionisierung von DNA mittels eines gepulsten Lasers (Impulsdauer: einige Millisekunden). Sie wird gasförmig (Desorption) und im elektrischen Feld beschleunigt. Die Zeit der einfach geladenen Ionen in der nachgeschalteten feldfreien Strecke (Flugrohr) bis zum Erreichen eines Detektors wird gemessen und gibt Auskunft über das Verhältnis von Masse zu Ladung. (Gey, 2015, Gross, 2012, Karas und Hillenkamp, 1988, Schmidt, 2003a)

Da die Extensionsprodukte differenzierende Massen aufweisen, kann anhand der in Abhängigkeit von der Masse unterschiedlichen Flugdauer auf die angehängte Base und damit den Genotypen des SNPs geschlossen werden. Diese wurde unter Zuhilfenahme der TYPER Analyzer 3.3.0 Software zugeordnet.

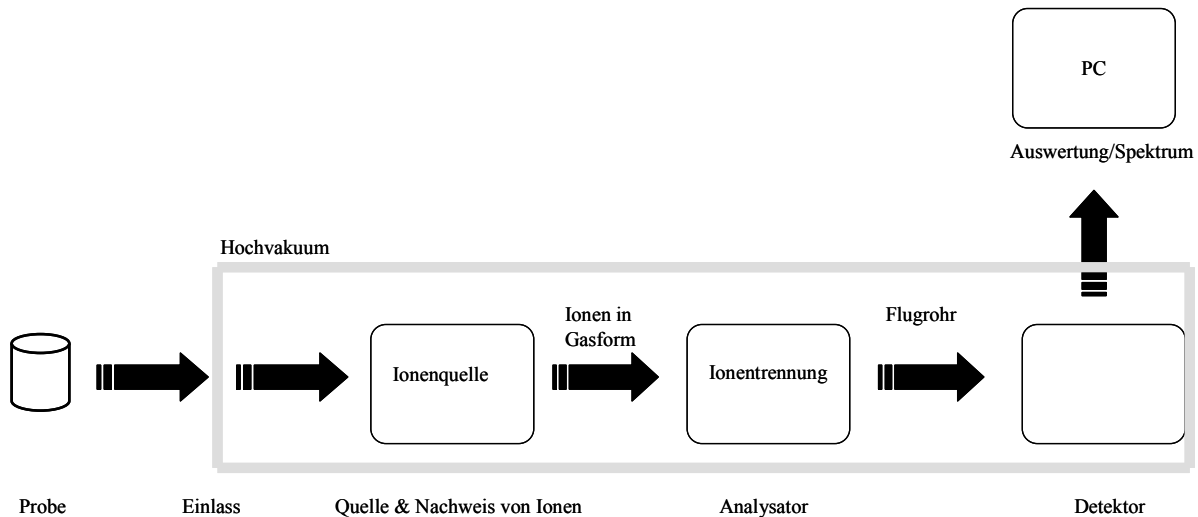


Abbildung 10: schematischer Aufbau eines Massenspektrometers (modifiziert nach Gey, 2015, Schmidt, 2003a)

4.5.5 Qualitätssichernde Maßnahmen

Es wurden im Vorfeld einige Kriterien festgelegt, die zum Ausschluss der Werte einzelner Testpersonen oder SNP-Assays führten. Das waren einerseits auftretende klinische Auffälligkeiten, andererseits laboranalytische Einschränkungen. Konnten zum Beispiel bei einem Studienteilnehmer weniger als 80% seiner Genotypen bestimmt werden, wurden seine Werte nicht in die Studie eingeschlossen, da hier möglicherweise eine ungenügende DNA-Qualität zugrunde lag.

Die Effektivität der einzelnen Assays wurde durch die Errechnung der *SNP-Callrate* (prozentualer Anteil aller valider Genotypen aus der Gesamtstichprobe) sichergestellt. Eine minimale Callrate von 85% war Voraussetzung für den Einschluss eines Assays.

Zusammen mit den zu analysierenden DNA-Proben wurde eine CEPH-Hapmap-Probe (*Centre d'Étude du Polymorphisme Humain*) untersucht, deren SNP-Genotypen bekannt sind. Über diesen Kontrollmechanismus konnte überprüft werden, ob die Ergebnisse valide oder durch mögliche Fehler in der Genotypisierung unbrauchbar waren. Der *Cut-off*-Wert hierfür lag bei 98,8% Übereinstimmung.

In jeder 96well Platte war auch eine Blind- und Kontrollprobe angebracht. Mit ihrer Hilfe konnten die Validität der Ergebnisse kontrolliert werden. Als weitere qualitätssichernde Maßnahme wurde auf das Vorliegen eines HWE geprüft.

4.6 Statistische Auswertung

Das Ziel der Analysen war es, mögliche Differenzen in Genotyp- und Allelzuordnung zwischen der Gruppe an Schizophrenie Erkrankter und der Kontrollgruppe mit blander psychiatrischer Anamnese zu erhalten. Die statistische Auswertung von Genotyp- und Allelverteilung wurde mit Hilfe der Software SPSS 17.0 (*Statistical Package for Social Sciences*; Inc Chicago, 2005, 2010) durchgeführt.

4.6.1 χ^2 -Test

An mathematischen Statistiktests wurde unter anderem der Chi-Quadrat-Test angewandt. Er prüft eine Hypothese mit χ^2 -verteilter Testprüfgröße bezüglich der Merkmalsverteilung (Anpassungstest). Hierfür wird ein Merkmal mit nicht bekannter Wahrscheinlichkeit begutachtet, indem eine primär allgemeine Nullhypothese aufgestellt wird. Voraussetzung für die Durchführung ist ein ausreichend großer Umfang der Stichprobe und Mindestbedingungen bezogen auf die erwarteten Häufigkeiten. (Bortz und Döring, 2006, Kamps, 2014, Kuckartz et al., 2010, Rinne, 1994, Rönz und Strohe, 1994)

Mit dem Chi-Quadrat-Test werden die neuen Ergebnisse mit den erwarteten verglichen (Kuckartz et al., 2010). Als signifikant wurde hier ein p-Wert kleiner 0,05 betrachtet, als Tendenz zur Signifikanz ein Wert unter 0,1.

4.6.2 Definition der verwendeten statistischen und genetischen Grundbegriffe

Die Genotypenverteilung wurde unter dem Gesichtspunkt des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts betrachtet und so geprüft, ob eine stabile Verteilung der untersuchten Genotypen in der Bevölkerung vorlag. Dieses Equilibrium geht von einer idealen Population aus, in der unabhängig von möglichen externen Einflussfaktoren ein Gleichgewicht zwischen den Genotypen besteht. Laut Hardy und Weinberg bleibt die Homozygoten- und Heterozygoten-Verteilung unter gewissen Voraussetzungen generationsübergreifend gleich, das heißt, das Gleichgewicht ist stabil, wenn keine externen Störfaktoren einwirken. Voraussetzungen sind eine große Bevölkerung, in der Paarungen uneingeschränkt sind und ein Nichtvorhandensein von Mutationen, Genmigration und Allelselection. Auf dieser Grundlage ist es möglich, die Häufigkeit der verschiedenen Genotypen zu ermitteln. (Edwards, 2008, Nature Education, 2013, Sengbusch, 2004)

Darüber hinaus ist die Überprüfung des HWE ein probates Mittel, um Unstimmigkeiten in der Genotypisierung und damit ein fehlerhaftes Assaydesign aufzudecken (Hosking et al., 2004).

4 Material und Methoden

Es gibt verschiedene Gründe für eine Verteilung außerhalb des HWE. Einerseits besteht die Möglichkeit externer biologischer Ursachen, andererseits können aber auch die oben erwähnten artefiziellen Veränderungen im Genotypisierungsvorgang ausschlaggebend sein (Hosking et al., 2004).

Das Hardy-Weinberg-Equilibrium galt hier als positiv, wenn Werte über $p=0,05$ aus dem F-Test resultierten. Die Ergebnisse deuteten bei p-Werten $> 0,05$ auf eine Verteilung der Marker innerhalb des Hardy-Weinberg-Equilibriums hin. In diesem Fall war die Wahrscheinlichkeit gering, dass systematische Genotypisierungsfehler stattgefunden hatten. Ein Beispiel für einen solchen Fehler wäre, wenn ein Allel nicht zuverlässig und analog zu den anderen durch die Genotypisierung erkannt würde. (Attia et al., 2009a)

Der Wert nach Fisher wird mit dem F-Test bestimmt und dient einer Varianzanalyse. Mit diesem Wert lässt sich abschätzen, ob bei mehreren Stichproben aus normalverteilten Bevölkerungen ein Varianzunterschied besteht. Das heißt, er überprüft zwei statistische Populationen auf Unterschiede hin. (Bortz und Schuster, 2010, Bortz und Döring, 2006, Rinne, 2003, Rönz und Strohe, 1994, Sachs, 2004)

Wird beim F-Test eine exakte Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,05, also fünf Prozent angegeben, ist das Ergebnis signifikant (Kuckartz et al., 2010).

Als signifikantes Ergebnis der Assoziationsstudie wird ein Ergebnis gedeutet, wenn ein Unterschied zwischen zwei Gruppen erkannt wird, für den eine rein zufällige Entstehung unwahrscheinlich ist. Wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 0,05 liegt, kann auf die Alternativhypothese geschlossen werden. (Kuckartz et al., 2010, Schmidt, 2003b)

Mit dem Vertrauensintervall/Konfidenzintervall (KI) wird festgelegt, inwiefern sich der gemessene Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% in einem bestimmten festgelegten Bereich der Standardnormverteilung befindet. Bestimmt wird es unter anderem durch die Signifikanzgrenze. (Kuckartz et al., 2010, Schmidt, 2003b)

Meist wird wie hier das 95% Konfidenzintervall berechnet, das besagt, dass maximal fünf % der Werte einer Probe aus der Grundgesamtheit einer Population außerhalb des Bereichs von $z=-1,96$ und $+1,96$ liegen (Kuckartz et al., 2010).

Die Odds Ratio ist das Verhältnis von Kreuzprodukten, stellt also ein Assoziationsmaß dar, das das Verhältnis der Ausprägungen der Zielvariablen angibt. Für beide Ausprägungsformen einer Variablen (unabhängig) werden die Verteilungen (abhängig) der Zielvariablen verglichen und daraus eine „relative Chance“ für das Auftreten eines Ereignisses (der Erkrankung) bestimmt. Aus diesen Odds errechnet sich ein Verhältnis der Auftretenschancen.

Bezogen auf die vorliegende Untersuchung heißt das, die OR gibt an, um wie viel höher das Risiko für Personen einer speziellen Allesverteilung verglichen mit denen einer davon abweichenden ist zu erkranken. Das Ergebnis eins besagt, dass kein Unterschied zwischen den Odds existiert, ein Ergebnis unter eins definiert die erste Odds als die kleinere und ein Wert über eins sagt aus, dass die erste Odds die größere von beiden zu vergleichenden Verhältnissen ist. (Kuckartz et al., 2010)

Der p-Wert entspricht der Prüfgröße oder Signifikanz eines Tests, das heißt der minimalen Wahrscheinlichkeit eines Irrtums, die eine Nullhypothese zu widerlegen vermag. Er wird vor Testbeginn festgelegt und bestimmt, welche Irrtumswahrscheinlichkeit im Testverlauf gerade noch akzeptabel ist, und ab wann man das Resultat als nicht signifikant einstuft. In den Auswertungen der vorliegenden Testreihe wurden bei Angabe von Mittelwert und Standardabweichung alle p-Werte unter 0,05 als signifikant eingestuft.

Wird bei einer Auswertungstabelle ein $df=1$ (*degrees of freedom*, englisch für Freiheitsgrade) angegeben, besagt dies, dass die Frequenz einer Kombination von zwei Merkmalen bereits die Frequenzen der übrigen drei Bereiche einer vierzelligen Kreuztabelle definiert (Kuckartz et al., 2010).

Das trifft für diese Auswertungen für den Vergleich der Testgruppe von Trägern eines Allels zu, sei es homozygot oder heterozygot, mit der Gruppe, bei der das andere Allel homozygot vertreten ist. Zwei Freiheitsgrade dagegen gibt es, wenn in einer Auswertungstabelle Häufigkeiten für drei unterschiedliche Merkmalskombinationen angegeben werden, in unseren Auswertungen bei der Definition der Genotypen. Hier können allein durch die Kenntnis der Homozygotenfrequenz für ein Allel nicht die Häufigkeiten für die anderen Gruppe, das heißt einem homozygoten Auftreten des anderen Allels und einer Heterozygotie angegeben werden. Die Tabelle ist durch diese eine Häufigkeitsangabe nicht definiert. (Kuckartz et al., 2010)

5. ERGEBNISSE

Die in dieser Arbeit analysierten Marker liegen auf Chromosom 14, und zwar auf dessen langem Arm q im Bereich der Bande um 32.32. Hier befindet sich das Gen AKT1. Verwendet wurden hierfür die Genotypisierungen der SNPs rs1132975, rs2494732, rs1130233, rs3730358, rs2494743 und rs2494746 von kaukasischen von Schizophrenie Betroffenen und gesunden Kontrollpersonen.

Rs1132975 befindet sich in der 3'Genregion, rs2494732, rs3730358, rs2494743 und rs2494746 in Introns und rs1130233 in Exon 9, bedingt jedoch keinen Aminosäureaustausch.

5.1 Prüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts

Für alle genotypisierten SNPs wurde das Hardy-Weinberg-Equilibrium geprüft.

Tabelle 10: Verteilung der Genotypen in den untersuchten SNPs und entsprechende p- und F-Werte der 6 SNPs

SNP	Genotypen			Kontrollen			Erkrankte			HWE	
	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	p	F
rs1132975	CC	CT	TT	560	575	156	227	228	45	0,859	-0,004
rs2494732	CC	CT	TT	261	670	404	93	264	175	0,490	-0,016
rs1130233	AA	AG	GG	83	454	772	19	161	303	0,161	-0,116
rs3730358	CC	CT	TT	1027	309	33	394	132	13	0,095	0,038
rs2494743	CC	CT	TT	23	238	1065	7	104	401	0,054	0,448
rs2494746	CC	CG	GG	18	215	1064	6	94	397	0,100	0,039

Freiheitsgrade $df=1$; A1A1=homozygot Allel 1, A1A2=heterozygot, A2A2=homozygot Allel 2

Da p-Werte über 0,05 auf einer Verteilung der Marker innerhalb des Hardy-Weinberg Equilibriums hindeuten, lagen die Marker rs1132975, rs2494732 und rs1130233 innerhalb des HWE, rs2494743, rs2494746 und rs3730358 wichen leicht davon ab. Eine Verteilung lässt die Vermutung zu, dass systematische Genotypisierungsfehler unwahrscheinlich sind.

5.2 Analyse des Polymorphismus rs1132975

Zu Anfang der Analyse des Markers rs1132975 wurden die gewonnenen Daten hinsichtlich der Unterschiede zwischen Patientenkollektiv und Kontrollgruppe ausgewertet. Auf Grundlage der Ergebnisse konnte kein signifikant verändertes Vorkommen eines C-Allels in der Testgruppe der schizophrenen Patienten verglichen mit den Kontrollprobanden beobachtet werden. Entsprechend bestätigten vorliegende Ergebnisse keine Verbindung dieses Charakteristikums und dem Erkrankungsrisiko.

5 Ergebnisse

Allgemein und vergleichsgruppenübergreifend lag die Häufigkeit des C-Allels etwa um das Doppelte über der des T-Allels. Der p-Wert lag bei 0,147, die *Odds Ratio* bei 0,891 und das 95% KI zwischen 0,762 und 1,041.

Im Anschluss wurden die Genotypen des entsprechenden Polymorphismus betrachtet und ihre Häufigkeit zwischen den Testgruppen verglichen. Die möglichen Kombinationen des Polymorphismus von SNP rs1132975 waren die homozygoten Formen CC und TT, sowie die heterozygote Variante CT. Die Analyse der betrachteten Werte ergab keinen signifikanten Unterschied. Der Genotyp CC war bei schizophrenen Patienten nicht überzufällig häufiger anzutreffen als der Genotyp TT. Die Häufigkeit des homozygoten Genotyps TT war jedoch testgruppenübergreifend wesentlich niedriger als die der anderen Kombinationen und bewegte sich um die zehn Prozent. Der p-Wert lag bei 0,176.

Anschließend wurde verglichen, wie häufig das Allel C in homozygoter oder heterozygoter Form im Vergleich zu T in homozygoter Form vorlag. Hierbei zeigte sich, dass dies deutlich häufiger sowohl im Gesamtkollektiv als auch in den beiden Untergruppen der Fall war. Der p-Wert lag bei 0,064, die *Odds Ratio* bei 0,720 und das 95%KI im Bereich 0,509 bis 1,020 (s. Abb. 11).

Umgekehrt zeigte der Vergleich der Häufigkeiten einer homozygoten Verteilung von C im Vergleich zu dem Auftreten eines Allels T (CT und TT) eine weitgehend ausgeglichene Verteilung in allen Gruppen mit einem leichten Überwiegen von T-haltigen Genotypen. Der p-Wert hierfür lag bei 0,439, die Odds Ratio bei 0,921 und das 95%KI zwischen 0,749 und 1,134.

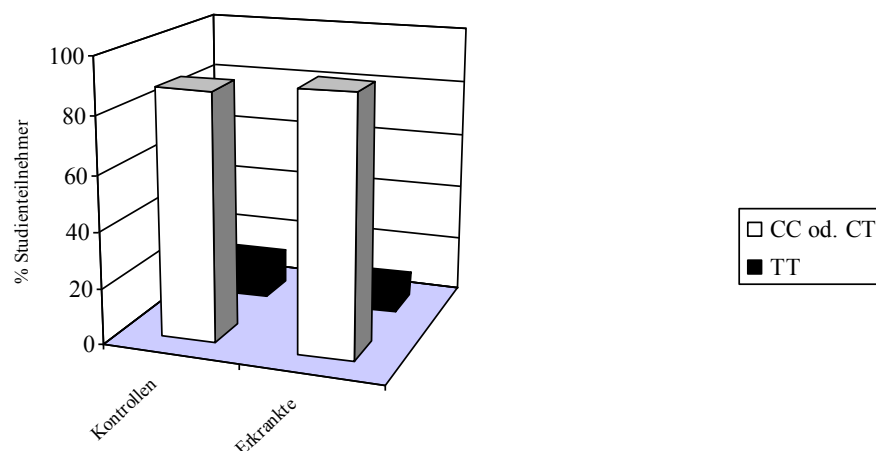


Abbildung 11: Genotypverteilung Allel C-Träger vs. Homozygotie T von SNP rs1132975. Der Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen zeigt einen Trend zur Signifikanz ($p = 0,064$).

5.3 Analyse des Polymorphismus rs2494732

Bei der Analyse des SNPs rs2494732 wurden die Daten hinsichtlich der Unterschiede zwischen Patientenkollektiv und Kontrollgruppe ausgewertet. Die Allele C und T waren nicht mit einer erhöhten Erkrankungshäufigkeit für Schizophrenie assoziiert ($p = 0,172$).

Auch bei SNP rs2494732 wurden die Genotypen des entsprechenden Polymorphismus betrachtet und ihre Häufigkeiten verglichen. Die möglichen Kombinationen des Polymorphismus von SNP rs2494732 waren die homozygoten Formen CC und TT, sowie die heterozygote Variante CT. Die Frequenzen der verschiedenen Genotypen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den getesteten Gruppen. Der p-Wert lag bei 0,387.

Die oben genannten Werte lassen den Schluss zu, dass keine überzufällig seltene oder häufige Verteilung des Genotyps TT oder eines anderen Genotyps im Zusammenhang mit der Schizophrenie steht.

Anschließend wurde auch hier überprüft, ob das Allel C in homozygoter oder heterozygoter Form häufiger auftrat als eine Homozygotie für das Allel T. Dies war mit etwa 2/3 versus 1/3 der Fall. Der p-Wert war 0,256, die OR 1,133 und das 95% Konfidenzintervall lag im Bereich 0,913 bis 1,405.

In der nächsten Analyse wurde das homozygote Auftreten von C mit der Häufigkeit der T-Allelträger verglichen. Hierbei lag das Verhältnis bei etwa 4/5 für die Genotypen TT und CT gegenüber etwa 1/5 für eine Homozygotie von C. Der p-Wert betrug 0,268, die OR 1,160 und das 95% KI lag bei 0,892 bis 1,507.

Insgesamt war der SNP rs2494732 in keinem der statistischen Modelle signifikant mit Schizophrenie assoziiert.

5.4 Analyse des Polymorphismus rs1130233

Bei der Auswertung der Allelverteilung im SNP rs1130233 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden getesteten Personengruppen. So kam das Allel A überzufällig häufig bei an Schizophrenie erkrankten Testpersonen vor, wobei die Gesamthäufigkeit des A-Allels testgruppenübergreifend erheblich unter der des G-Allels lag. Der p-Wert lag bei 0,051 (s. Abb. 12).

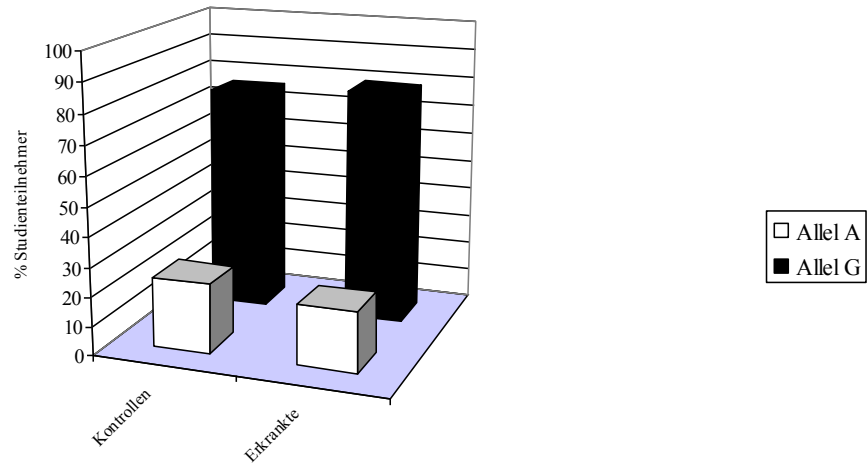


Abbildung 12: Die Allelverteilung in SNP rs1130233 ist signifikant ($p = 0,051$).

Ein Vergleich bezüglich des Genotyps wurde ebenso bei Marker rs1130233 durchgeführt, wobei AA, AG und GG möglich waren. Die Analyse der Genotypenverteilung von SNP rs1130233 ließ einen Trend zur Signifikanz erkennen. Der p-Wert lag bei 0,100 (s. Abb. 13). So war in der Gruppe der Erkrankten der Genotyp AA tendenziell häufiger als der Genotyp GG. Gruppenübergreifend jedoch lag die Frequenz einer A-Homozygotie weit unter der der anderen Genotypkombinationen, nämlich nur um die fünf Prozent.

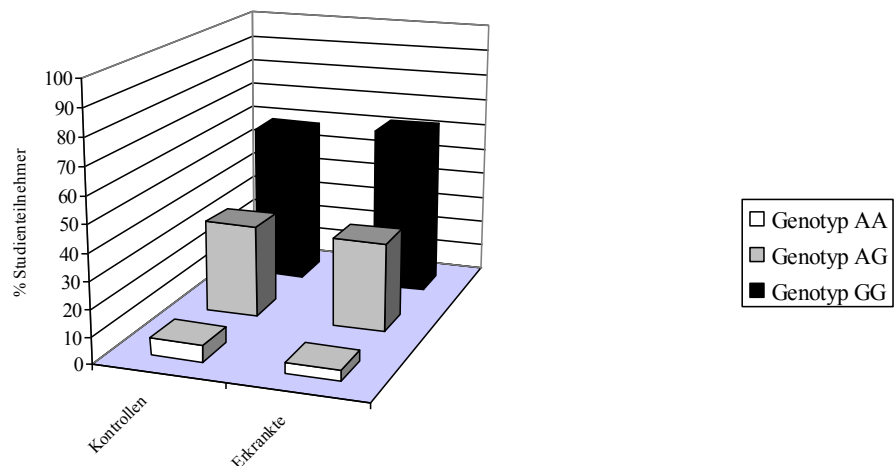


Abbildung 13: Die Genotypenverteilung bei SNP rs1130233 zeigt einen Trend zur Signifikanz ($p = 0,1$).

Um jedoch die Aussagen über eine prädisponierende Verteilung der Genotypen konkretisieren zu können, wurden wie auch bei den anderen getesteten SNPs Untergruppen aus Trägern von wenigstens einem Allel A und homozygoten G-Trägern gebildet und miteinander verglichen. Hierbei konnte aber keine signifikante Differenz zwischen den Gruppen belegt werden, da

5 Ergebnisse

eine Homozygotie für G nicht weniger häufig bei Schizophreniekranken vorkam. Der p-Wert lag bei 0,150, die OR bei 1,71 und das 95% KI zwischen 0,945 und 1,452.

Der umgekehrte Vergleich zwischen den Trägern des G-Allels (GG und GA) mit den für Allel A-Homozygoten ergab einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen. Der homozygote Genotyp AA kam in der Gruppe der Erkrankten häufiger vor. Der p-Wert lag bei 0,051, die *Odds Ratio* bei 1,653 und das Konfidenzintervall bei 0,993 bis 2,753 (s. Abb. 14).

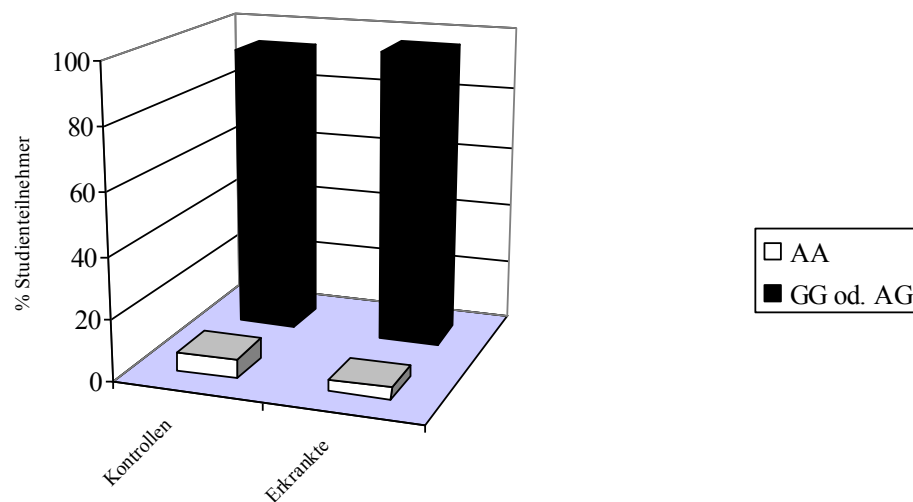


Abbildung 14: Vergleich der Häufigkeit der G-Allelträger mit der des homozygoten Genotypen AA für SNP rs1130233 ist signifikant ($p = 0,051$)

5.5 Analyse des Polymorphismus rs3730358

Im nächsten Schritt wurde die Allelverteilung für SNP rs3730358 geprüft. Die Ergebnisse sind im Folgenden genauer aufgeschlüsselt. Die Allelverteilung zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Gruppenübergreifend fiel auf, dass das T-Allel wesentlich seltener auftrat als das korrespondierende C. Der p-Wert lag bei 0,441.

Ein Vergleich bezüglich des Genotyps wurde ebenso durchgeführt, wobei CC, CT und TT möglich waren. Auch in der Verteilung der Genotypen zeigte sich keine Signifikanz bezogen auf Unterschiede zwischen den Gruppen. Somit fanden sich keine Hinweise auf eine Assoziation des Genotyps CC mit der Schizophrenie. TT war mit gruppenübergreifend 2,4% der bei Weitem am seltensten auftretende Genotyp. Der p-Wert betrug 0,668. Die Gegenüberstellung von Testpersonen mit wenigstens einem C-Allel und homozygoten Trägern von T ergab keinen überzufällig erscheinenden Unterschied zwischen Patienten und

Kontrollen. Der p-Wert lag bei 0,999, die OR bei 1,001 und das 95 %KI zwischen 0,523 und 1,916.

Die nachfolgende Gegenüberstellung von Personen mit mindestens einem T-Allel und denen mit zwei C-Allelen zeigte keine signifikante Differenz zwischen den Testpopulationen.

Der p-Wert lag bei 0,386, die OR bei 1,105 und das 95 %KI bei 0,881 bis 1,386.

5.6 Analyse des Polymorphismus rs2494743

Die Differenzen zwischen den Allelen C und T wurden hier ebenso zwischen den Testgruppen betrachtet. Es konnten keine Unterschiede in den Allelfrequenzen zwischen Kontrollprobanden und getesteten Patienten nachgewiesen werden. Der p-Wert lag bei 0,478. Gruppenübergreifend jedoch zeigte sich ein deutliches Überwiegen des T-Allels verglichen mit C.

Ein Vergleich bezüglich der Genotypen wurde durchgeführt, wobei CC, CT und TT möglich waren. Bezogen auf die Verteilung von möglichen Genotypen war weder eine Signifikanz noch eine Tendenz zu konstatieren. Der p-Wert lag bei 0,450.

Jedoch fiel gruppenübergreifend eine deutlich geringere Wahrscheinlichkeit für das Auftreten des homozygoten Genotyps CC im Vergleich zu den anderen möglichen auf. Auch bei diesem SNP wurden zur genaueren Aufschlüsselung der Genotypen die Probanden mit mindestens einem C-Allel mit denen mit zwei T-Allelen verglichen. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Der p-Wert lag bei 0,340, die OR bei 0,885 und das 95 %KI zwischen 0,689 und 1,137.

Umgekehrt wurden in diesem Zusammenhang auch die Träger von wenigstens einem T-Allel mit denen von zwei C-Allelen verglichen. Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied und damit eine Assoziation mit der Schizophrenie erruiert werden. Der p-Wert war 0,577, die OR 1,273 und das 95 %KI 0,543 bis 2,986.

5.7 Analyse des Polymorphismus rs2494746

Auch für SNP rs2494746 wurden die Differenzen zwischen den Allelen C und G zwischen den Testgruppen betrachtet. Es war bei einem p-Wert von 0,376 kein signifikanter Unterschied zu erkennen. Die allgemeine Häufigkeit von Allel C lag jedoch testgruppenunspezifisch deutlich unter der von G.

Auch ein Vergleich der Genotypen wurde bei SNP rs2494746 durchgeführt, wobei CC, CG und GG mögliche Kombinationen darstellten. Hier konnte kein Unterschied in den Genotyphäufigkeiten zwischen Patienten und Kontrollprobanden nachgewiesen werden. Der

p-Wert lag bei 0,489. Beim Vergleich der Personen mit mindestens einem Allel C und denen, die homozygot für G waren, zeigten sich bei einem p-Wert von 0,293 keine signifikanten Unterschiede. Die Odds Ratio lag bei 0,869 und das 95 %KI zwischen 0,670 und 1,129.

Umgekehrt wurden wie auch bei allen anderen SNPs mögliche Unterschiede zwischen homozygoten (CC) und G-haltigen Genotypen (CG und GG) betrachtet und diese auf ihre Signifikanz geprüft. Auch in diesem Fall ergab sich kein Anhalt für einen überzufälligen Unterschied. Der p-Wert war 0,766, die OR 1,152 und das 95 %KI 0,455 bis 2,918.

5.8 Überblick über die Signifikanz der Ergebnisse

Tabelle 11 stellt einen Überblick über die Auswertungen der untersuchten sechs SNPs des AKT1-Gens im Hinblick auf signifikante Unterschiede in Genotyp- und Allelverteilung zwischen an Schizophrenie erkrankten Personen und Kontrollen dar. So zeigte sich für rs1132975 ein tendenziell selteneres Auftreten des homozygoten Genotyps TT im Vergleich zu der Gruppe aller C-Träger bei erkrankten Personen. Für rs1130233 zeigten die Analysen ein signifikant häufigeres Auftreten von homozygotem AA im Verhältnis zu G-haltigen Genotypen (GA und GG).

Für die anderen SNPs ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 11: Gesamtüberblick über die Ergebnisse mit Angabe der entsprechenden p-Werte

SNP	Verteilung der Allele	Verteilung der Genotypen	Verteilung der homozygoten Allelträger
rs1132975	0,147	0,176	0,064 /0,439 TT tendenziell seltener bei Erkrankten
rs2494732	0,172	0,387	0,256/0,268
rs1130233	0,051 A signifikant häufiger bei Erkrankten	0,1 AA bei Erkrankten tendenziell häufiger als GG	0,150/ 0,051 AA signifikant häufiger bei Erkrankten als GA und GG zusammen
rs3730358	0,441	0,668	0,999/0,386
rs2494743	0,478	0,450	0,340/0,577
rs2494746	0,376	0,489	0,293/0,766

6. DISKUSSION

Die vorliegende Dissertation hatte zum Ziel, sechs verschiedene Einzelnukleotidpolymorphismen des AKT1-Gens zu analysieren und gegebenenfalls deren Bezug zur Schizophrenieentstehung nachzuweisen. Das im Fokus stehende Gen befindet sich seit einiger Zeit im Interesse von Forschern, die versuchen ein Erklärungsmodell zur psychiatrischen Pathogenese zu erstellen. AKT1 spielt unter anderem in der Regulation von Zellwachstum, -differenzierung und –tod eine Rolle. Es befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 14 (Staal et al., 1988). Die hierdurch kodierte Serin/Threonin-Proteinkinase hat über die Signaltransduktionswege Phosphatidylinositol-3-Kinase und GSK3b Auswirkungen auf mannigfaltige Regulationsmechanismen im menschlichen Körper (Alessi et al., 1996, Aubry et al., 2009, Datta et al., 1999, Karege et al., 2010, Saudemont und Colucci, 2009, Thiselton et al., 2008).

In der Literatur gibt es Studien, die einen Zusammenhang von AKT1 mit der Schizophrenieentstehung konstatieren, aber ebenfalls solche, die dies verneinen. Die bisher beschriebenen Genorte überschneiden sich in Bereichen mit den in dieser Arbeit untersuchten. Dies schafft bedingt die Möglichkeit zum unmittelbaren Vergleich der Ergebnisse.

Die Untersuchung der sechs obengenannten Einzelnukleotidpolymorphismen ergab nur für zwei davon ein signifikantes beziehungsweise ein tendenziell signifikantes Ergebnis. Für alle im Bereich von Introns gelegenen SNPs rs2494732, rs3730358, rs2494743 und rs2494746 konnte in den vorliegenden Analysen keine signifikante Assoziation mit dem psychischen Erkrankungsbild gezeigt werden.

Der Marker rs1132975, der in der 3'Genregion liegt, zeigte mit einem p-Wert von 0,064 ein tendenziell selteneres Auftreten des homozygoten Genotyps TT bei Schizophrenieerkrankten. Ein signifikantes Ergebnis erbrachte die Untersuchung des im Exon 9 gelegenen SNPs rs1130233. Hierbei wiesen sowohl die Genotypen als auch die Allelverteilung und die Gegenüberstellung der homozygoten Ausprägung überzufällig große Unterschiede auf.

6.1 Diskussion der Methodik

Studiendesign

Vor dem Hintergrund, dass verschiedene untergeordnete Gendefekte in ihrer Kombination zur Erkrankung führen können, ist eine Abwägung verschiedener Studiendesigns sinnvoll.

Mit Hilfe von Assoziationsstudien ist es möglich auch geringe Auswirkungen verschiedener Vulnerabilitätsgene zu detektieren. So werden Verknüpfungen unterschiedlicher Allele mit der Manifestation einer Krankheit aufgedeckt.

Eine Gefahr hierbei stellen fehlerhafte Schlussfolgerungen aufgrund von krankheitsunabhängigen Unterschieden zwischen den Testgruppen dar (Alkelai et al., 2011, Eggers et al., 2004, Hunter und Kraft, 2007, Tandon et al., 2008).

In genomweiten Assoziationsstudien ist das Risiko falsch-positiver wie falsch-negativer Ergebnisse höher als in der ursprünglichen Form medizinischer Studien. Dies ist einerseits bedingt dadurch, dass viele Marker gleichzeitig betrachtet werden, andererseits dadurch, dass für die Schizophrenie keine genetische Homogenität angenommen werden kann. So stehen für einzelne Varianten eventuell zu wenige Testpersonen zur Verfügung. Aus diesen Gründen ist es hierbei besonders wichtig, die Replizierbarkeit der Ergebnisse an großen Kollektiven zu prüfen. (Attia et al., 2009a, Hunter und Kraft, 2007, McClellan et al., 2007, Owen, 2000)

Bei einer Assoziationsstudie ist es möglich, viele verschiedene Einzelnukleotidpolymorphismen zu analysieren, die einen mehr oder minder großen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko haben. Nebeneinanderliegende SNPs werden aber häufig kombiniert als sogenannte Haploblöcke vererbt. So wird neben dem im Fokus stehenden SNP auch die umliegende Genregion mitanalysiert. Deshalb ist allein die Schlussfolgerung möglich, dass im Bereich des untersuchten chromosomalen Arealen ein Suszeptibilitätsgen für die Schizophrenie liegt. Ein signifikantes Ergebnis allein ist jedoch noch kein Beweis für einen kausalen Zusammenhang des jeweiligen Einzelnukleotidpolymorphismus mit der Psychose. Wenn ganze Haplotypblöcke in Zusammenhang mit der Erkrankung gebracht werden, ist eine mögliche Interpretation, dass der analysierte Marker zwar mit einem verursachenden Gen zusammen vererbt wird (aufgrund seiner Lage in unmittelbarer Nähe dazu), aber allein dadurch mit dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken assoziiert ist (Attia et al., 2009 a-c). Ein niedriger p-Wert weist auf eine mögliche Verbindung hin.

Darüber hinaus gibt es noch die Möglichkeit von Kopplungsanalysen, die den Zusammenhang einer Krankheit und der spezifischen Modifikation eines Genorts aufzeigen. Gekoppelt sind Krankheit und eine vielgestaltige DNA-Sequenz, zum Beispiel in Form von SNPs, wenn sie überdurchschnittlich häufig kombiniert vererbt werden (Strachnan und Read, 1999). Ein möglicher Nachteil der Anwendung im Rahmen unserer Fragestellung ist, dass die detektierbaren Bereiche wesentlich umfangreicher sind und so kleinere genetisch bedingte Effekte unterzugehen drohen.

Mit Hinblick auf die Hypothese, dass die Manifestation der Schizophrenien durch das Zusammenwirken unterschiedlicher kleinerer Genveränderungen mit teils sehr geringen

Effekten mitbedingt werden könnte (Chakravarti, 1999, Owen, 2000), schien eine Assoziationsstudie für die hier vorliegenden Fragestellungen am besten geeignet.

Auswahl der Testpersonen, Einschlusskriterien

Wichtig bei der Auswertung genetischer Studien ist eine ausreichende Anzahl von Probanden. Speziell bei der Analyse von niederfrequent auftretenden Variationen werden, um valide Aussagen über Abweichungen treffen zu können, sehr große Fallzahlen benötigt, da anderenfalls falsch-negative Ergebnisse die Folge sein können (Hunter und Kraft, 2007, O'Donovan und Owen, 1999).

In den vorliegenden Analysen wurde dieser Problematik bei einem Minimum von 1000 Testpersonen in den Kontrollgruppen und 500 in den Patientenkollektiven Rechnung getragen. Ein allgemeines Problem in der Rekrutierung einer Vergleichsgruppe ist die weitgefächerte psychische Morbidität in der Gesamtbevölkerung. So ist es teils mit Schwierigkeiten verbunden, eine ausreichende Zahl freiwilliger Kontrollpersonen zu finden, deren eigene aber auch familiäre psychische Anamnese gänzlich blande ist. Auch könnte eine veränderte psychische Selbstreflexion, wie sie in unterschiedlichen Gruppen auftritt, die Motivation zur Teilnahme beeinflussen.

Um versteckte psychische Morbiditäten im Kontrollkollektiv auszuschließen, wurden hier SKID 1 und 2, LEBI und FHAM durchgeführt. In der vorliegenden Untersuchung wurde durch oben genannte Maßnahmen versucht, das Risiko psychisch Erkrankte im Kontrollkollektiv einzuschließen, zu minimieren. Diese Voraussetzung ist nicht in allen Assoziationsstudien zum Thema Schizophrenie gegeben, so dass hier prinzipiell die Möglichkeit besteht, dass Erkrankte oder Prädisponierte und damit auch deren genetische Charakteristika als Bestandteil der blanden Kontrollgruppe gewertet werden.

Ein denkbare Problem auch in der Rekrutierung der Patientengruppe ist, dass die Motivation an der Studienteilnahme unter Umständen durch die Krankheitsform oder auch durch den aktuellen Status geprägt sein könnte. So ist es denkbar, dass zurückgezogene Betroffene mit vorwiegender Negativsymptomatik eine Teilnahme von vornherein verneinen oder frühzeitig abbrechen.

Einen weiteren möglichen Störfaktor stellen Inhomogenitäten zwischen den untersuchten Gruppen dar, so auch die jeweilige Altersverteilung in den Versuchsgruppen. Eine Gegenmaßnahme hierzu ist eine Gruppenbildung, die eine vergleichbare Verteilung sicherstellt. Hierbei ist auch wichtig das Manifestationsalter der Schizophrenie sowohl der *Early-* und *Late-Onset*-Formen zu bedenken. Eine Gefahr birgt so zum Beispiel die Zulassung

von Kontrollprobanden unter 32 Jahren, da in einem Großteil der Fälle die Erstmanifestation der Erkrankung in der Dekade vor dem 32. Lebensjahr stattfindet (Hafner und an der Heiden, 1999). In den Testgruppen der vorliegenden Studie lag das Alter zwischen 18 und 79 Jahren, durchschnittlich jedoch bei 44,9+/-15,1 Jahren und somit über dieser Grenze. Hierdurch konnte das Risiko einer fälschlicherweise Zuordnung zur Kontrollgruppe reduziert werden.

Das Krankheitsverhalten variiert darüber hinaus nicht nur alters- sondern auch geschlechtsabhängig (Hafner und an der Heiden, 1999). So sollte bei der Einteilung auch auf ein weitgehend ausgewogenes Geschlechterverhältnis in beiden Gruppen geachtet werden (vorliegende Untersuchung: Patienten 65,11% m, 34,89% w; Kontrollen: 45,89% m, 54,11% w; Gesamtkollektiv: 51,08% m, 48,92% w). Wie aus diesen Werten ersichtlich ist, bestand das Patientenkollektiv zu etwa zwei Drittel aus Männern, während das Verhältnis in der Kontrollgruppe ausgeglichener war. Sollen jedoch die Aussagen der Studie noch genauer in Bezug auf das Geschlecht differenziert werden, wären verlässlichere Werte bei einer ausgeglichenen Geschlechterrelation zu erwarten.

Um die Gruppen auch bezogen auf ihren Sozialstatus vergleichbar zu machen, wurde als Indikator der höchste erreichte Schulabschluss der einzelnen Probanden erfragt. Hierbei erfolgte eine dreigeteilte Staffelung in niedrig, mittel und hoch. Auch hierbei wurde darauf geachtet, größere Diskrepanzen zwischen der Gruppe der Gesunden und der Erkrankten zu vermeiden (vorliegende Untersuchung: Patienten 43,66% niedrig, 27,10% mittel, 29,24% hoch; Kontrollen: 22,80% niedrig, 33,91% mittel, 43,29% hoch). Ein möglicher Grund für diese Unterschiede ist, dass eventuell bei Personen eines höheren Bildungsgrades und damit häufig einhergehendem höherem sozialen Status die Bereitschaft höher sein könnte, an wissenschaftlichen Studien teilzunehmen. Ein möglicher Erklärungsansatz für ein Überwiegen von Personen mit einem vergleichsweise niedrigen Bildungsgrad in der Gruppe der Patienten ist die durch die Krankheit bedingte Veränderung des Sozialstatus. Bei einem Krankheitsbild wie der Schizophrenie, das sich in einem verhältnismäßig jungen Lebensalter manifestiert, kann dies Einfluss auf den eingeschlagenen Bildungsweg haben.

Durch die krankheitsbedingten Einschränkungen sind teils Schulabbrüche, fehlende Berufsausbildung, Berufsunfähigkeit oder Arbeitslosigkeit möglich. Bekannt ist, dass Schizophrenie gehäuft bei Personen auftritt, die zu niedrigeren sozialen Schichten gehören, wobei die Zugehörigkeit per se nicht mit einem erhöhten Krankheitsrisiko einhergeht. Vielmehr scheint die sogenannte „*Drift-Hypothese*“ diesen Zusammenhang zu erklären, die besagt, dass Beeinträchtigungen durch die Krankheit und damit einhergehende Probleme zum

sozialen Abstieg führen. (Aro et al., 1995, Häfner 2005, Gaebel und Wölwer, 2010, Lewis et al., 1992, Möller et al., 2009, Reinecker, 2003, Saraceno et al., 2005, Vargas et al., 2014)

Während bei den Frühformen der soziale Aufstieg behindert wird, kommt es bei den Spätformen gehäuft zum sozialen Abstieg, das Risiko, sozial abzugleiten ist für Männer höher als für Frauen, was eventuell durch das unterschiedliche Krankheitsverhalten erklärt werden kann (Aro et al., 1995, Häfner, 2005).

So ist eine Abfragung des Bildungsstatus, auch wenn ihr bei der Auswertung der vorliegenden Ergebnisse keine maßgebliche Rolle beigemessen wurde, wichtig für die Testgruppenbildung. Interessant wäre auch, wie in den Untersuchungen von Vargas et al. (2014), den persönlichen Bildungsgrad des Erkrankten dem der Mutter (oder der Eltern allgemein) gegenüberzustellen und den besten Beschäftigungsstatus mit der zuletzt ausgeübten Beschäftigung zu vergleichen. Hierdurch wären eine genauere Einteilung der Testgruppen, die Zuordnung sozialer Mobilität zum Erkrankungssubtyp und der prädisponierenden genetischen Veränderungen und nicht zuletzt prognostische Aussagen möglich (Vargas et al., 2014).

Ein nächster entscheidender Punkt, bezogen auf die Vergleichbarkeit der Kontroll- und Patientengruppen, stellt deren ethnische Zugehörigkeit dar. Dies wird als Bevölkerungsstratifikation bezeichnet und ist durch Häufigkeitsunterschiede der Allele zwischen Populationen charakterisiert. Sie kann sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Resultate bedingen. Das sollte dazu veranlassen, Untersuchungen an Probanden unterschiedlicher ethnischer Herkunft differenziert zu betrachten und zu hinterfragen. In den vorliegenden Untersuchungen wurden nur Personen mit kaukasischem Hintergrund eingeschlossen, die getroffenen Aussagen beschränken sich entsprechend auf diese ethnische Gruppe.

Diagnostische Kriterien

Die Diagnostik im Rahmen der Patientenrekrutierung beruhte in dieser Studie auf einer eindeutigen Schizophreniediagnose auf Grundlage des DSM-IV. Bei einem Vergleich mit anderen Assoziationsstudien ist zu beachten, dass einige Untersuchungen und auch Metaanalysen schizophrene Erkrankungen nach DSM-III-R-Kriterien, DSM-IV-Kriterien, ICD-9 oder nach ICD-10 einschließen. Jedoch sollten sich allein hierdurch keine allzu großen Abweichungen ergeben, da alle diese diagnostischen Werkzeuge ähnliche Ansätze verfolgen (Albus et al., 1990, Dilling et al., 2004, Gaebel und Wölwer, 2010, Hwu et al., 1988, Sass et al., 2003).

Ein weiterer Punkt, der beim Vergleich mit anderen Assoziationsstudien im Auge behalten werden sollte, ist, dass diese teils auch Probanden einschlossen, die an anderen Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis, schizoauffektiven oder schizophrenieformen Störungen litten. Diese müssen, obwohl sie Überschneidungen untereinander zeigen, deshalb nicht zwingend kausale Übereinstimmungen aufweisen.

Die standardisierten klinischen Befragungen nach SKID-1 sicherten in dieser Studie eine einheitliche, reliable, etablierte und vergleichbare Methode der Klassifikation, die auch bei verschiedenen Untersuchern gegeben ist (Ramirez Basco et al., 2000, Skre et al., 1991). Gleiches gilt für die PANSS, die angewandt wurde, um den Krankheitstyp genauer einzugrenzen (Kay et al., 1987, 1988, Peralta und Cuesta, 1994, Möller, 2009). Es wurden ausschließlich Patienten mit definitiv gestellter psychiatrischer Diagnose einer Schizophrenie nach DSM IV in das Testkollektiv eingeschlossen.

Obwohl in der jüngeren Vergangenheit verschiedene Studien einen kausalen, genetischen wie auch einen klinischen Zusammenhang mit anderen psychiatrischen Krankheitsentitäten wie zum Beispiel bipolaren oder affektiven Störungen vermuten lassen (Craddock et al., 2005, Giegling et al., 2010, Green et al., 2010, Hodgkinson et al., 2004), wurden Personen mit diesen eventuell verwandten Diagnosen nicht eingeschlossen, um klare Ergebnisse auf der Grundlage eindeutiger Zuordnung zu erhalten.

Auswahl der sechs Einzelnukleotidpolymorphismen

Vor dem Hintergrund, dass viele häufige Krankheitsbilder, wie auch die Schizophrenie durch eine Kombination von genetischen Veränderungen und Umwelteinflüssen ausgelöst werden kann, ist die Überlegung der vorliegenden Studien hierzu, dass die 0,1%, in denen sich die DNA-Sequenz zwischen zwei Individuen unterscheidet (International Hap Map Consortium, 2003, Phillips et al., 2007) ausschlaggebend für eine Erkrankung und auch für das Ansprechen auf angewandte Medikamente sein könnten. Einzelnukleotidpolymorphismen stellen solche geringfügigen Varianten im menschlichen Genom dar, die hierfür in Frage kommen. Hierbei bestehen die Unterschiede allein in einzelnen Basenvariationen (Hap Map NCBI, 2013).

Die im Rahmen dieser Arbeit besprochenen Einzelnukleotidpolymorphismen rs2494732, rs3730358, rs2494743 und rs2494746 liegen im Bereich von Introns, Regionen, die nicht an der Kodierung beteiligt sind. Im Unterschied hierzu liegt rs1130233 auf Exon neun und rs1132975 in der 3'Region des Gens. Die Auswahl der hier analysierten Bereiche deckt also sowohl kodierende als auch nicht kodierende Bereiche des Gens ab. Diese liegen in

Bereichen, auf die bereits Hinweise bestehen, dass sie im Zusammenhang mit einer Disposition an Schizophrenie zu erkranken stehen.

Darüber hinaus bestätigten auf assoziierende Haplotypen ausgerichtete Forschungsansätze eine Assoziation in Richtung des 5'-Endes von AKT1, an Schizophrenie zu erkranken (Thiselton et al., 2008).

Die hier analysierten SNPs sind Marker für das Gen AKT1 und wurden als Untergruppe einer großen Assoziationsstudie betrachtet. Da sie sich teils mit der Auswahl vorangegangenen Studien anderer Arbeitsgruppen decken, war eine Vergleichsmöglichkeit der vorliegenden Ergebnisse mit Literaturangaben bedingt gegeben.

AKT1 ist als mögliches Suszeptilitätsgen der Schizophrenie seit etwa einem Jahrzehnt im Gespräch. Von Bedeutung bei einer Beteiligung an der Pathogenese könnte die Kinaseaktivität im Rahmen einer physiologischen Entwicklung des Zentralnervensystems sein, ebenso wie seine antiapoptotische und proliferative Wirkung. Auch der Zusammenhang von AKT1, hypoxischen Gehirnschäden und der Entstehung von Psychosen ist in diesem Zusammenhang ein interessanter Gesichtspunkt (Joo et al., 2009, O'Callaghan et al., 1992, Preti et al., 2000).

Einen weiteren Hinweis auf eine Assoziation geben die differierenden Expressionsmuster der Kinase in den unterschiedlichen Gehirnarealen und die vermutete Beteiligung dieser ZNS-Regionen an psychiatrischer Krankheitsentitäten (Balu et al., 2012, Harrison, 2004, Lewis und Gonzalez-Burgos, 2008, Tan et al., 2008).

AKT1 ist auch vereinbar mit der Dopaminhypothese der Schizophrenie. So wurde im Rahmen neuroradiologischer Messungen und Fall-Kontroll-Studien ein Zusammenhang mit einem funktionellen Polymorphismus der COMT (Val158Met) gezeigt, was wiederum für eine Beteiligung der Kinase an der dopaminergen Transmission spricht (Bertolino et al., 2006, Fan et al., 2005). So können genauere Erkenntnisse über die Beteiligung auch zu einer Festigung der Dopaminhypothese führen, für die sowohl die Beobachtung von Arzneimittelwirkungen als auch klinischer Symptome und deren Zuordnung zu spezifischen Gehirnarealen sprechen. Aufgrund der aufgeführten Punkte wie bereits durchgeführter Studien ergeben sich Hinweise auf einen ätiologischen Zusammenhang von Schizophrenie und AKT1. Hierauf gründet sich die Entscheidung differenzierte molekulargenetische Analysen an AKT1 durchzuführen und deren Ergebnisse im Hinblick auf das psychotische Krankheitsbild detaillierter zu betrachten.

Ein zu diskutierender Aspekt ist auch die Multifaktorialität der schizophrenen Krankheitsentstehung. So scheint es unmöglich, „die“ genetische Ursache dieser

psychiatrischen Entität zu definieren, da mehrere Gene eine Rolle als Suszeptibilitätsgene zu spielen, und darüber hinaus weitere Einflussfaktoren wie Umweltfaktoren von Bedeutung zu sein scheinen. In diesem Zusammenhang besteht offensichtlich eine multifaktorielle und multidimensionale Prädisposition zu erkranken, wenn Risikofaktoren aus verschiedenen Bereichen zusammentreffen und sich über Wechselwirkungen untereinander modifizieren und möglicherweise noch verstärken (Sawa und Snyder, 2002). Hierfür spricht auch die starke intra- wie interpersonale Variabilität der schizophreniebezogenen Klinik.

Labortechnische Verfahren

Die Ergebnisse und die sich darauf beziehenden Interpretationen gründen auf den Resultaten molekulargenetischer Untersuchungen. Hierbei wird versucht, DNA-Variationen zu finden, die in einem direkten oder indirekten kausalen Zusammenhang zur Pathogenese stehen.

Das verwendete Genotypisierungsverfahren bestand aus einer konventionellen PCR im Multiplexmaßstab, gefolgt von einer Einzelbasenverlängerung (iPLEX-Methode, Sequenom). Die Genotypen wurden anschließend im Massenspektrometer weiteranalysiert.

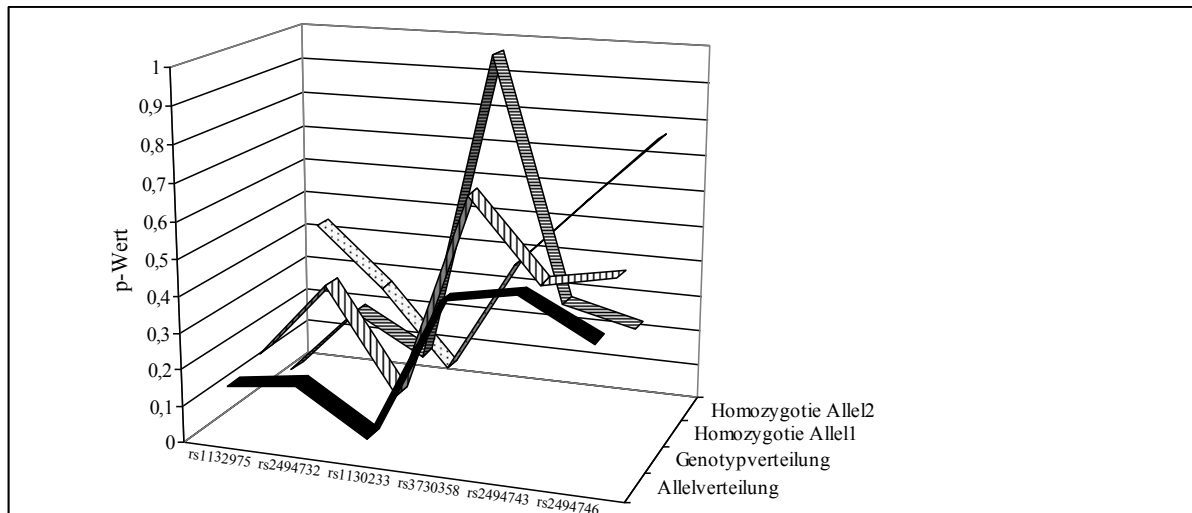
Die offensichtlichen Vorteile der angewandten iPLEX-Methode und MALDI-TOF sind der verhältnismäßig niedrige Kosten- und Zeitaufwand gepaart mit einer großen Genauigkeit (Ding, 2006, Haff und Smirnov, 1997, Oeth et al., 2005).

Parallel zu den Analysen wurden aus Gründen der Qualitätssicherung die beschriebenen *Clusterplots*, Kontroll- und Blindproben, betrachtet. Für jede Probe beziehungsweise jeden SNP wurden darüber hinaus alle aufgeführten qualitätssichernden Maßnahmen durchgeführt.

6.2 Überblick über die Ergebnisse und Interpretation

Das deutlichste Ergebnis lieferte der in Exon 9 liegende SNP, der jedoch nicht zu einem Austausch von Aminosäuren führt (E242E) (s. Abb. 15).

Diese Beobachtungen lassen eine Abhängigkeit des Einflusses von Polymorphismen gebunden an ihre Lokalisation im Gen vermuten.



	rs1132975	rs2494732	rs1130233	rs3730358	rs2494743	rs2494746
Allelverteilung	0,147	0,172	0,051	0,441	0,478	0,376
Genotypverteilung	0,176	0,387	0,100	0,668	0,450	0,489
Homozygotie Allel 1	0,064	0,256	0,150	0,999	0,340	0,293
Homozygotie Allel 2	0,439	0,268	0,051	0,376	0,577	0,766

Abbildung 15: graphische Darstellung der p-Werte von Allelverteilung, Genotypverteilung, und homozygoten Allelträgern für die untersuchten SNPs

In den vergangenen Jahren wurden viele Studien zu den molekulargenetischen Grundlagen der Schizophrenie durchgeführt. Diese untersuchten zahlreiche Polymorphismen an unterschiedlichen Genorten. Anhand von Assoziationsstudien wurden diesbezüglich, teils im Rahmen von genomweiten Studien, länderübergreifender Zusammenschlüsse verschiedener Arbeitsgruppen hohe Fallzahlen (36.989 Schizophrenieerkrankte, 113.075 Kontrollen) von Betroffenen mit geeigneten Kontrolltestpersonen verglichen (PGC, 2014). So wurde versucht, Häufigkeitsunterschiede und damit Assoziationen zur Krankheit aufzuzeigen und diese Ergebnisse replizierbar zu machen.

Ein Hauptproblem dieses Forschungsgebietes stellt die Vielzahl und Komplexität von Genorten dar, die unter Umständen nur marginale Einflüsse auf die Krankheitsentstehung haben und allein über Wechselwirkungen zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko beitragen. Durch Metaanalysen der bisherigen Studien und Replikationsuntersuchungen wird versucht, hier Abhilfe zu schaffen.

Auch, wenn AKT-1 nicht unter den genomweit signifikanten Markern liegt, könnte es eine Rolle in der Schizophrenieentstehung spielen. Ein möglicher Grund hierfür wäre, dass sein Effekt insgesamt zu gering oder populationsgebunden ist.

Zum kausalen Zusammenhang oder einer Assoziation von AKT1 mit der Schizophrenie wurden in den letzten zehn Jahren mehrere Studien durchgeführt. Die Ergebnisse hieraus

waren nicht einheitlich. Mögliche Ursachen dafür müssen evaluiert werden. Denkbar sind beispielsweise unterschiedliche Testansätze, differierende Stichprobengrößen und Allelfrequenzen, aber auch eine Heterogenität der Varianten mit Einfluss auf Krankheit (Thiselton et al., 2008).

Ethnizität

Eine mögliche Ursache der differierenden Resultate der bisherigen Studien ist die Zusammensetzung der Studienpopulationen aus verschiedenen ethnischen Zugehörigkeiten. Auch in Untersuchungen zu anderen Themen ergaben sich Hinweise darauf, dass prädisponierende SNPs sich zwischen verschiedenen Bevölkerungsgruppen unterscheiden (Ikeda et al., 2004, Panguluri et al., 2004).

Es besteht die Möglichkeit, dass Polymorphismen im AKT1-Gen für unterschiedlich hohe Risiken bei verschiedenen Bevölkerungsgruppen wie einen starken Anteil bei Kauasiern und einer schwachen Auswirkung auf ostasiatische Bevölkerungsgruppen beitragen (Toyota et al., 2003).

Einen Überblick über Unterschiede in den Genotypfrequenzen gibt Tabelle 12. Hier sind unsere Analyseergebnisse ausgewählten Angaben aus dem Internationalen Hap Map-Projekt gegenübergestellt.

Diese Werte zeigen teils deutliche Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung von Genotypen zwischen den unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen. Ein Ansatz, die durch die Bevölkerungsstratifikation bedingten Unstimmigkeiten in den Ergebnissen zu verifizieren, besteht darin, auf homogene Studienpopulationen zu achten, aber auch heterogene Kollektive unter Berücksichtigung eines Stratifikationsfaktors zu analysieren. So widerspricht ein nicht bestätigter Zusammenhang bei ethnischer Heterogenität nicht automatisch einem korrekten Ergebnis (Sebastiani et al., 2009).

Um die Unterschiede bedingt durch den ethnischen Hintergrund der Probanden zu erruieren, stellen Metaanalysen ein geeignetes Instrument dar. Darüber hinaus sind Vergleiche von Allel- und Genotypfrequenzen in den unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen durchzuführen.

Tabelle 12: Vergleich der prozentualen Häufigkeiten der Genotypen der untersuchten SNPs

1				4			
rs1132975	CC	CT	TT	rs3730358	CC	CT	TT
Kontrolle	43,4	44,5	12,1	Kontrolle	75,0	22,6	2,4
Erkrankte	45,4	45,6	9,0	Erkrankte	73,1	24,5	2,4
Europäer	42,9	46,4	10,7	Europäer	69,6	21,7	4,3
Asiaten	14,1	53,2	32,7	Asiaten	k.A.	k.A.	k.A.
Afrikaner	61,9	31,0	7,1	Afrikaner	54,2	45,8	-

2				5			
rs2494732	CC	CT	TT	rs2494743	CC	CT	TT
Kontrolle	19,6	50,2	30,3	Kontrolle	1,7	17,9	80,3
Erkrankte	17,3	49,7	33,0	Erkrankte	1,4	20,3	78,3
Europäer	26,1	56,5	17,4	Europäer	0,9	20,4	78,8
Asiaten	k.A.	k.A.	k.A.	Asiaten	45,3	45,4	9,3
Afrikaner	16,7	58,3	25,0	Afrikaner	21,6	54,1	24,3

3				6			
rs1130233	AA	AG	GG	rs2494746	CC	CG	GG
Kontrolle	6,3	34,7	59,0	Kontrolle	1,4	16,6	82,0
Erkrankte	3,9	33,3	62,7	Erkrankte	1,2	18,9	79,9
Europäer	9,1	45,5	45,5	Europäer	-	16,7	83,3
Asiaten	k.A.	k.A.	k.A.	Asiaten	47,8	44,3	7,9
Afrikaner	-	8,3	91,7	Afrikaner	15,0	58,3	26,7

Gegenüberstellung der Ergebnisse dieser Arbeit mit ausgewählten Frequenzangaben von Populationen verschiedenen ethnischen Hintergrunds aus dem Internationalen Hap Map-Projekt; k.A.: keine Angabe; Europäer/Kaukasier (Bewohner Utahs mit Nord- und Westeuropäischer Herkunft); Asiaten (Han Chinesen, Japaner), Afrikaner (Yoruba Afrikaner Nigeria). (modifiziert nach Hap Map NCBI, 2013 und eigene Ergebnisse)

AKT1 in der Schizophrenie

Es existieren deutliche Hinweise darauf, dass hypoxämische und ischämische Störungen in der fetalen Entwicklung des Zentralnervensystems, die Entstehung der Schizophrenie mit begünstigen, unter Umständen sogar verursachen (Byrne et al., 2007, Dean und Murray, 2005, McNeil et al., 2000, Tejkalova et al., 2007, Zornberg et al., 2000).

Ein kausaler Zusammenhang mit spezifischen Genmutationen scheint naheliegend, da genetische Determinanten einen Einfluss auf die Umgebungsfaktoren aufweisen, denen ein Individuum ausgesetzt ist (Joo et al., 2009, van Os und Marcelis, 1998).

AKT1 gehört zu den mit der Schizophrenie in Verbindung gebrachten Genen, die vermutlich über eine Hypoxie beeinflusst werden und die im ZNS und Gefäßsystem exprimiert werden (Schmidt-Kastner et al., 2006).

So ist ein Einfluss auf die nervale und vaskuläre Entwicklung parallel denkbar (Carmeliet, 2003). Auf diese Annahme gründet die Vermutung, dass neurovaskuläre Einheiten im Zusammenhang mit einer normalen Gehirnentwicklung stehen (Joo et al., 2009). Über Störvariablen und Fehlregulationen in diesem Zusammenhang könnten schizophreniebedingende Entwicklungsstörungen im Sinne eines Insults oder funktioneller Einbußen des Gehirns resultieren, wie sie sich unter anderem in einer Vergrößerung der Ventrikel und einem verkleinerten Hippokampus zu äußern im Stande sind (Joo et al., 2009, Nelson et al., 1998, Rehn et al., 2004, Shenton et al., 2001). Ein Problem ist auch, dass die zentralnervösen morphologischen Veränderungen bei schizophrenen Patienten nicht zwangsläufig übereinstimmen. Sie sind nicht auf bestimmte Lokalisationen begrenzt und nicht zwingend offensichtlich.

Auch Störvariablen wie Medikation, Todesursache und Komorbidität haben Einfluss auf das morphologische Korrelat, das erst postmortal untersucht werden kann (Hallmayer, 2004).

Eine definitive Aussage über eine Beteiligung und das Ausmaß genetischer Parameter im Allgemeinen und AKT1 im Speziellen an der Schizophrenieentstehung wird durch verschiedene Dinge erschwert. Einerseits ist die Klinik der Schizophrenie sehr heterogen, was Unstimmigkeiten in der Diagnostik bedingt (Hallmayer, 2004). Dies wirft die Frage auf, ob unterschiedliche Formen wie zum Beispiel ein Überwiegen von Positiv- oder Negativsymptomatik auch unterschiedlich Vulnerabilitätsfaktoren haben.

Eine weitere Schwierigkeit einen konkreten Zusammenhang von Erkrankung und genetischem Korrelat aufzudecken, ist der komplexe Erbgang, der eine eindeutige Zuordnung von Genotyp und Phänotyp kaum möglich erscheinen lässt (Hallmayer, 2004).

Es ist festzuhalten, dass selbst bei klar definierter genetischer Ausstattung keine Vorhersagen über das klinische Bild der Erkrankung gemacht werden können. Der Genotyp allein erklärt weder die Wechselwirkungen der Gene untereinander noch die Interaktionen mit Umweltfaktoren.

In einer der ersten Studien zum Zusammenhang von AKT1-Varianten und der klinischen Diagnose der Schizophrenie von Emamian et al. (2004) an 335 an Schizophrenie oder schizoaffektiven Psychosen Erkrankten wurden fünf Einzelnukleotidpolymorphismen im AKT1-Gen analysiert, rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799 und rs2494732. Hierbei konnte bei einem p-Wert von 0,05 eine signifikante Assoziation von SNP rs3730358 nachgewiesen werden. Das Testkollektiv beinhaltete Personen aus 268 betroffenen Familien (210 Patienten-Eltern-Dreiergruppen und 58 erweiterte Familien), bei denen anhand der

DSM-IV die Diagnose einer Schizophrenie oder einer schizoaffectiven Erkrankung gestellt worden war. Die DNA der aus dem peripheren Blut der Erkrankten extrahierten Lymphozyten wurden mit in Bezug auf Geschlecht, Ethnizität und Rasse abgestimmten Kontrollproben verglichen. (Emamian et al., 2004)

Die Angaben von Schwab et al. 2005 beziehen sich auf Untersuchungen von 79 kaukasischen Familien mit 172 Nachkommen mit Schizophrenie und schizoaffectiven Erkrankungen, deren Diagnose mittels SAD-L (*Schedule For Affective Disorder Schizophrenia-Lifetime Version*), SKID-2 und OPCRIT (*Operational Criteria Checklist For Psychotic Illness*) eingeordnet wurde. Analysiert wurden die fünf ursprünglichen SNPs aus der Studie von Emamian et al. (2004) rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799, rs2494732 und darüber hinaus die zwei weiteren Marker rs2498784 und rs10149779. Mittels eines statistischen Programms (FAMHAP Haplotype Association Analysis) wurde die Assoziation von SNPs und Haplotypen mit einem Algorithmus abgeschätzt und mit „Pseudo-Kontrollen“ verglichen. (Becker und Knapp, 2004a, b, Herold und Becker, 2009, Schwab et al., 2005)

Hierbei bestätigte sich bei einem p-Wert von 0,027 die vorbeschriebene Signifikanz von SNP rs3730358. Es ergaben sich Hinweise auf eine überzufällige Assoziation von rs1130214 ($p=0,011$) und rs10149779 ($p=0,002$) mit der Erkrankungswahrscheinlichkeit (Schwab et al., 2005).

In der Analyse von Ikeda et al. 2004 wurden bei 507 japanischen Patienten und 437 Kontrollen die SNPs rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799, rs2494732 und rs2498804 betrachtet. Die Diagnosestellung erfolgte anhand der DSM-IV-Kriterien. Hierbei zeigte sich bei einem p-Wert von 0,037 eine Signifikanz für den Marker rs2494732. Der in dieser Untersuchung im Vergleich zur Ursprungstudie von Emamian et al. 2004 zusätzlich im Mittelpunkt des Interesses stehende SNP rs2498804 wurde aufgrund dieser Signifikanz gewählt. Er befindet sich von rs2494732 weiter in Richtung des 3'Endes und ergab bei einem p-Wert von 0,021 auch einen Hinweis auf eine Assoziation mit der Erkrankung. (Ikeda et al., 2004, Suzuki et al., 2003).

Da in dieser Studie signifikante Ergebnisse bei den beiden SNPs auftraten, die am nächsten am 3'Ende von AKT1 lagen, ist eine Assoziation von Variationen dieses Bereichs mit der Schizophrenie denkbar.

In der Untersuchung von Thiselton et al. 2008 wurden acht verschiedene SNPs des AKT1-Gens in einer Probe der ISHDSF (*Study Of High-Density Schizophrenia Families*) betrachtet. Diese waren die auch in der vorliegenden Untersuchung analysierten und bereits durch

frühere Studien mit der Schizophrenieentstehung assoziierten Marker rs2494732 und rs3730358, sowie die auch in der Literatur mit der Schizophrenie in Verbindung gebrachten SNPs rs130214 und rs2498799. Zusätzlich wurden weitere vier Marker in Richtung des 3'UTR-Endes, rs3803304, rs2498802, rs2498804 und den auch in unserer Untersuchung beschriebenen rs2494746 analysiert. Bezogen wurde sich auf die OPCRIT-Symptomskala. Untersucht wurden 1408 Personen aus 265 irischen Familien, in denen Schizophrenie häufig vorkam. Eingeteilt wurde in verschiedene konzentrisch angeordnete Kategorien, die vom schizophrenen Formenkreis breit gefächert bis hin zu jeglichen psychischen Erkrankungen reichten. (Thiselton et al., 2008)

Die statistische Auswertung wurde mit HAPLOVIEW v3.2 von Genotypen nichtverwandter Spender durchgeführt und Assoziationsanalysen mit dem Transmissions-Disequilibriums-Test unter Nutzung von TRANSMIT v2.5.4 und PDTPHASE v4.0 erstellt (Barret et al., 2005, Clayton, 1999, Thiselton et al., 2008).

In den Auswertungen wurde bei einem p-Wert zwischen 0,1 und 0,2 ein moderater Trend zur Signifikanz für die Marker rs1130214 und rs2494732 beschrieben.

In der vorliegenden Assoziationsstudie wurde der *Cut-off* für einen Signifikanztest bei 0,05 angesetzt. Jedoch sind die p-Werte zwischen den einzelnen Studien nicht unmittelbar vergleichbar, da einige Ergebnisse aus Fall-Kontrollstudien stammen, wohingegen andere Assoziationen mittels statistischer Tests aus einem Kollektiv Betroffener (z.B. Familienanalysen Erkrankter) berechnet wurden. Jedoch sind resultierende Zusammenhänge zwischen SNPs und der Schizophrenie vergleichbar.

So zeigten SNP rs2494732 in einer Studie von Ikeda et al. (2004) und SNP rs1130214 in den Analysen von Schwab et al. (2005) eine weitaus größere Signifikanz. Die Testpersonen waren bei Ikeda et al (2004) japanischer, bei Schwab et al. (2005) europäischer Abstammung. SNP rs2494732 zeigte bei der Analyse der Werte unseres kaukasischen Testkollektivs keinen Anhalt für eine Überzufälligkeit. Rs1130214 wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht geprüft.

Im Gegensatz zu den Studien, die eine positive Assoziation zwischen AKT1-Polymorphismen und der Schizophrenie postulieren, ergaben die Untersuchungen von Lee et al. (2010) keinen derartigen Hinweis auf signifikante Zusammenhänge. Untersucht wurden die sechs Marker rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs1130233, rs2494732 und rs2498804 an 283 Erkrankten und 350 Kontrollpersonen koreanischer Abstammung. Die Patienten erfüllten die diagnostischen Kriterien nach DSM-IV. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Genotyp- oder Allelverteilung in den Einzelnukleotidpolymorphismen zwischen den

beiden Kollektiven. Bei p-Werten zwischen 0,1 und 0,2 war ausschließlich ein mäßiger Trend für rs3803300 und rs3730358 zu erkennen. (Lee et al., 2010)

Diese Arbeitsgruppe erstellte auch eine Metaanalyse auf der Grundlage von sechs weiteren Vorgängerstudien zu den oben genannten sechs Markern, die ebenfalls keine überzeugenden Hinweise auf einen Zusammenhang von Polymorphismen dieser im AKT1-Gen mit der Schizophrenie ergaben.

Xu et al. untersuchten 2007 an 384 chinesischen Patienten und 384 Kontrollpersonen gleicher Herkunft fünf Marker. Die Diagnosekriterien entsprachen der DSM-IV. Für rs3803300 konnte bei einem p-Wert von 0,003 ein signifikanter Zusammenhang zur Erkrankung beschrieben werden (Xu et al., 2007).

Ohtsuki et al. analysierten 2004 die Marker rs303300, rs1130214, rs3730358, rs2498799 und rs2494732 an 559 Erkrankten und 567 Gesunden japanischer Herkunft. Die Diagnose entsprach den DSM-III-R-Richtlinien. Es konnte keine Signifikanz gezeigt werden (Ohtsuki et al., 2004).

Liu et al. untersuchten 2006 an 219 Familien aus Taiwan die fünf SNPs rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799 und rs2494732. Es ergab sich kein signifikanter Zusammenhang (Liu et al., 2006, Norton et al., 2007).

In den Auswertungen von Norton et al. (2007) wurde die Unterschiede zwischen 673 Erkrankten und 716 Kontrollpersonen analysiert. Die Testkollektive setzten sich aus in Großbritannien geborenen Personen zusammen, die Diagnosekriterien entsprachen der DSM-IV. Bei der Analyse von rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799, rs2494732, rs2498784, rs10149779 und rs2498804 ergab sich bei p-Werten über 0,17 kein Hinweis auf einen Zusammenhang der Schizophrenie mit einem der Einzelnukleotidpolymorphismen (Norton et al., 2007).

Von Ide et al. (2006) wurden in einer familienbasierten Assoziationsstudie 376 Personen aus 124 japanischen Familien mit einer genetischen Disposition für Schizophrenie betrachtet, wovon 163 erkrankt waren. So wurden 80 komplette voneinander unabhängige Trios aus einem Elternpaar mit einem an Schizophrenie erkrankten Nachkommen, 15 Probanden mit einem betroffenen Elternteil, 13 Personen mit einem betroffenen Geschwisterteil und 30 mit diskordanten Geschwistern in die Analyse einbezogen. Analysiert wurden SNPs rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799 und rs2494732. In der japanischen Bevölkerung gesicherte Muster genomischer Assoziationsungleichgewichte (*Linkage Disequilibrium*=LD) wurden durch paarweise LD-Prüfung von AKT1-Markern in 186 nichtverwandten Personen ermittelt (Ide et al., 2006). Weiterhin wurden zu statistischen Analysen der PDT (*Pedigree*

Disequilibrium Test) und der ETDT (*Extended Transmission Equilibriumtest*) angewandt. Es wurde ebenfalls kein Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken festgestellt. (Ide et al., 2006, Norton et al., 2007)

Die bekannten Einzelnukleotidpolymorphismen rs380330, rs1130214, rs3730358, rs2498799 und rs2494732 wurde von Bajestan et al. (2006) an 321 iranischen erkrankten und 383 gesunden Freiwilligen untersucht. Die Diagnose entsprach den Kriterien nach DSM-IV. Eine Assoziation der Marker mit der Schizophrenie wurde nicht gezeigt (Bajestan et al., 2006).

Karege et al. (2010) konzentrierten sich auf die Marker rs380330, rs1130214, rs3730358, rs1130233, rs2494732 und rs2498804 bei 384 Schizophreniepatienten und 165 Kontrollprobanden europäischer Herkunft. Hierbei wurde bei einem p-Wert von 0,028 eine schwache Assoziation für rs2494732 beschrieben (Karege et al., 2010).

Eine große Untersuchung von Sanders et al. (2008) wurde an 1870 Erkrankten und 2002 Kontrollpersonen aus Europa durchgeführt. Hierbei analysierten die Autoren insgesamt 648 Einzelnukleotidpolymorphismen verschiedener Gene, unter anderem 17 im AKT1-Gen, von denen keiner eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie zeigte (Lee et al., 2010, Sanders et al., 2008).

Die Untersuchungen von Emamian et al. (2004) und Schwab et al. (2005) zeigen eine Dominanz des Allels C im Marker rs3730358 im Zusammenhang mit der Erkrankung (Thiselton et al., 2008). Diese Ergebnisse wurden durch unsere Untersuchungen nicht bestätigt.

Ein weiterer interessanter Aspekt in der Analyse eines möglichen Zusammenhangs zwischen AKT1-Polymorphismen und der Schizophrenie wurde durch Liu et al. (2009) beleuchtet. Das Testkollektiv hierbei bestand aus 120 hanchinesischen Patienten mit akuter Exazerbation einer Schizophrenie (nach DSM-IV), die im Vorfeld keine Behandlung mit atypischen Antipsychotika erhalten hatten. Sie wurden im Rahmen der Studie über einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen mit Risperidon behandelt. In diesem Zeitraum wurde der Zustand der Patienten klinisch beobachtet, untersucht und standardisiert bewertet (z.B. mittels PANSS). Bei den Probanden wurden die SNPs rs3803300, rs1130214, rs3730358, rs2498799, rs2494732, rs2498804, rs2498784 und rs10149779 genotypisiert. Sowohl im medikamentös nicht behandelten Stadium wie auch unter bestmöglicher Behandlung mit Risperidon hatten die Genotypen der untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismen keinen Einfluss auf das klinische Erscheinungsbild. Die Untersucher schlussfolgerten aus diesen Resultaten, dass AKT1 keine Schlüsselrolle im klinischen und funktionalen Erscheinungsbild der Schizophreniepatienten hat, die erfolgreich mit Risperidon behandelt wurden. In dieser Studie

wurde auch ein möglicher Einfluss von AKT1-Polymorphismen auf eine klinische Besserung unter Risperidontherapie widerlegt. (Liu et al., 2009)

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass viele Studien existieren, in denen unterschiedliche SNPs von AKT1 und deren Assoziation mit dem Krankheitsbild der Schizophrenie an verschiedenen Bevölkerungsgruppen untersucht wurden. Diese erbrachten heterogene Ergebnisse (s. Tab. 13).

Bei Diskrepanzen zwischen den Untersuchungen gleicher SNPs kommen vielerlei Gründe in Frage. Die Auswahl des Testkollektivs, die Testmethoden, die Diagnosekriterien und die labortechnischen Verfahren sind Beispiele für methodisch bedingte Unterschiede. Ein anderer Aspekt wäre eine mögliche Abhängigkeit von der Unterform der Schizophrenieerkrankung. Verschiedene Formen könnten durch unterschiedliche Modifikationen bedingt sein.

Die Betrachtung der vorliegenden Daten, sowohl aus der Literatur als auch der im Rahmen dieser Arbeit besprochenen Ergebnisse lässt keine eindeutigen Schlussfolgerungen zu, ob eine Assoziation von AKT1 und der Wahrscheinlichkeit an Schizophrenie zu erkranken besteht.

Mehrere Studien sprechen für einen Zusammenhang, jedoch konnten bei der Untersuchung vieler SNPs keine signifikanten Ergebnisse dahingehend gezeigt werden. Ebenso waren die Resultate einiger der als signifikant dargestellten SNPs in folgenden Studien nicht reproduzierbar. In den genomweiten Studien war AKT1 nicht unter den als signifikant eingestuften Kandidatengenomen. Dennoch spricht einiges für einen Einfluss von AKT1, jedoch scheint das Ausmaß dessen gering zu sein oder stark von anderen inneren wie äußeren Einflüssen und Kriterien abhängig zu sein.

Tabelle 13: tabellarische Aufstellung einer Auswahl von Studien des letzten Jahrzehnts zur Assoziation zwischen Schizophrenie und AKT1 an verschiedenen Bevölkerungsgruppen

Autoren	Herkunft Probanden	rs1132975	rs10149779	rs2498784	rs2494732	rs1130233	rs3730358	rs2494743	rs2494746	rs3803300	rs1130214	rs2498799	rs2498804	rs3803304	rs2498802
Emamian et al. (2004)	USA				*		S		*		*	*			
Ohtsuki et al. (2004)	J				*		*			*	*	*			
Ikeda et al. (2004)	J				S		*			*	*	*	S		
Schwab et al. (2005)	D		S	*	*		S		*		S	S			
Ide et al., (2006)	J				*		*			*	*	*			
Liu et al., (2006)	T				*		*			*	*	*			
Bajestan et al., (2006)	Ir				*		*			*	*	*			
Norton et al., (2007)	GB			*	*		*			*	*	*			
Thiselton et al., (2008)	I				MT		*		*		MT	*	*	*	*
Karege et al., (2010)	S, F				*	S	*			*	*		*		
Lee et al., (2010)	K				*	*	MT			*	*		*		
Diese Studie	D	S			*	S	*	*	*						

Angegeben sind die jeweils untersuchten SNPs und gegebenenfalls ihre Signifikanz. Abkürzungen: J Japan, D Deutschland, T Taiwan, Ir Iran, C China, GB Großbritannien, I Irland, S Schweiz, F Frankreich, K Korea; * SNPs, die in der jeweiligen Studie analysiert wurden; S signifikant, MT moderater Trend

Auch in postmortalen Untersuchungen von Gehirnen schizophrener Patienten zeigten sich Diskrepanzen bezogen auf die AKT1-Expression.

Emamian et al. machten 2004 auf niedrige Proteinspiegel der Kinase im Hippokampus und dem frontalen Kortex in den Gehirnen von Erkrankten im Vergleich zu gesunden Kontrollen aufmerksam. Dies konnte von Ide et al. (2006) allerdings nicht bestätigt werden. Thiselton et

al. (2008) untersuchten die zerebrale Expression von AKT1-RNA postmortal, wobei bei einem p-Wert von 0,029 verminderte Spiegel im dorsolateralen präfrontalen Kortex von Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen gezeigt werden konnten.

In den Untersuchungen von Emamian et al. (2004) konnten um 68% reduzierte AKT1-Spiegel in den Lymphozyten von Erkrankten gemessen werden. Diese Veränderungen im AKT-GSK3 β Signalweg von Lymphozyten schizophrener Patienten konnten durch Ide et al. (2006) nicht bestätigt werden.

Karege et al. untersuchten 2010 Proteinspiegel in postmortalen Gehirnproben. Hierbei zeigten sich keine Unterschiede in den AKT1- und AKT2-Spiegeln zwischen Erkrankten und Gesunden, jedoch abhängig von Genvarianten. Die signifikanteste Assoziation zwischen AKT1-SNPs/Haplotypen und der Schizophrenieerkrankung wurde für einen 5SNPs-beinhaltenen-Haplotypen gezeigt (rs1130214, rs37303358, rs1130233, rs2494732, rs2498804). Dieser wurde bei an Schizophrenie Erkrankten weniger übertragen. (Karege et al., 2010)

Kozlovsky et al. (2004) bestätigten, dass bei Erkrankten präfrontale GSK3 β -Aktivität und GSK3 β -Proteinspiegel um über 40% und GSK-3 β -mRNA-Spiegel um 36% reduziert waren. Auch Emamian et al. (2004) konnten eine verminderte GSK3 β -Phosphorylierung zeigen. Widersprüchliche Ergebnisse lieferten die Daten von Ide et al. (2006). Hierbei zeigten sich weder signifikante Unterschiede in Expression und Phosphorylierung von AKT1 und GSK-3 β im frontalen Kortex noch in Lymphozyten.

Auf Grundlage der Daten ist auch denkbar, dass Veränderungen im GSK-3 β -Gen in einem kausalen Zusammenhang mit der Pathogenese der Schizophrenie stehen. GSK-3 β wiederum ist ein Substrat von AKT1 (Norton et al., 2007). Für eine Rolle von GSK3 β spricht, dass die Aktivität von GSK3 β durch die Medikamente Lithium und Valproat gehemmt wird (Chen et al., 1999).

Eine mögliche Ursache der Diskrepanzen in der Untersuchung postmortaler Gehirnregionen stellen Unterschiede in der Auswahl der untersuchten Areale dar (Ide et al., 2006). So sind differierende Kinase-Level in verschiedenen anatomischen Teilbereichen möglich. Eine Erklärung für die unterschiedlichen Veränderungen im AKT-GSK3 β Signalweg von Lymphozyten schizophrener Patienten sind die ethnischen Zugehörigkeiten der Testpersonen und die mangelnde Stabilität veränderter Kinasespiegel über anatomische Regionen hinweg wie auch sich unterscheidende Versuchsprotokolle. (Ide et al., 2006)

Diese Erkenntnisse sind auch vereinbar mit der Theorie zur Krankheitsentstehung, die von einer Störung der Gehirnentwicklung ausgeht (Kozlovsky et al., 2000, 2001, 2002, 2005).

Wenn AKT-Kinasen in den Gehirnen an Schizophrenie Erkrankter in reduziertem Maße vorhanden sind, und Medikamente mit förderndem Einfluss auf AKT-gebundene Signalwege helfen Symptome der Erkrankung zu mindern, scheinen AKT-Kinasen maßgeblich zu einer physiologischen Entwicklung und Funktion des Nervensystems beizutragen.

Die Auswirkungen eines gestörten GSK3 β /AKT1-Signalweges in der Schizophrenieentstehung verdeutlicht auch die neuroprotektive Wirkung von Paliperidon. Peng et al. beschrieben 2014, dass dieses atypische Antipsychotikum im Stande ist, die von Glutamat induzierte Abnahme der Genexpression und Phosphorylierung von AKT1 und GSK3 β umzukehren und so Einfluss auf die neurodegenerativen Vorgänge bei Schizophrenie haben könnte. (Peng et al., 2014)

Genetische Varianten von AKT-Kinasen können durch kleinste Veränderungen wie die Modifikation eines einzelnen Basenpaars bei einem Einzelnukleotidpolymorphismus bedingt sein. Diese vererbbaaren Minimalvariationen des individuellen Genpools bleiben häufig ohne funktionelle Folgen, können jedoch die Disposition für verschiedene Krankheiten, im vorliegenden Fall der Schizophrenie, verändern. Eine genaue Kenntnis der Mechanismen und Auswirkungen birgt erweiterte Möglichkeiten im Rahmen von Prävention und Therapie.

Eine zentrale Frage ist, wie Veränderungen in den untersuchten SNPs zu veränderten Phänotypen, sprich auch zu einer Manifestation der Erkrankung führen können. Liegen die Polymorphismen im Bereich von Introns, erfüllen sie keine kodierende Funktion. Gerade aber wenn sie an den Grenzen zu Exons liegen, ist die Möglichkeit gegeben, dass sie relevant werden können, zum Beispiel aufgrund von alternativem Spleißen. Es gibt auch primär phänotyperelevante SNPs (Budowle und van Daal, 2008). Diese liegen schon in einem kodierenden Bereich, Veränderungen können zu einem Aminosäureaustausch führen und dadurch bedingt eventuell die Produktion eines strukturell und auch funktionell anderen Proteins bedingen.

Eine weitere mögliche Phänotypen-Beeinflussung durch SNPs ist denkbar, wenn diese in örtlichem oder funktionellem Zusammenhang mit Kontrollinstanzen im Gen liegen oder aber signifikant assoziierte Varianten in der Nähe der entsprechenden SNPs liegen und darüber einen indirekten Einfluss haben, ohne selbst eine Funktion zu erfüllen.

6.3 Ausblick

Ein zentraler Aspekt in der Schizophrenieforschung ist die Problematik einer klaren kausalen Zuordnung von Erkrankung und selektiver Genmutation (Hallmayer, 2004).

Aus der Perspektive, dass die Schizophrenie ein multifaktoriell bedingtes und beeinflusstes Ergebnis komplexer Wechselwirkungen zwischen Umgebung und genetischem Hintergrund ist, bedarf es noch weiterer Untersuchungen, um einem definitiven Pathogenesemodell näher zu kommen (Joo et al., 2009).

Ein interessanter Punkt ist die Klassifizierung der schizophrenen Endophänotypen. So könnten die korrespondierenden genetischen Veränderungen Rückschlüsse auf das Erkrankungsrisiko erhöhende Genvarianten ermöglichen. Auch eine Vorhersage des individuellen Krankheitsverlaufes wäre bei Kenntnis der entsprechenden biologischen Veränderung denkbar. Damit wäre der Weg offen für eine neuartige innovative Einteilung vielfältiger psychischer Erkrankungen unter biologischen, morphologischen Gesichtspunkten (Braff et al., 2008, Craddock et al., 2006, 2007, Hill et al., 2008, Gottesman und Gould, 2003, Zobel und Maier, 2004). Auf Grundlage einer solchen biologisch orientierten Einteilung wäre auch ein veränderter Therapieansatz auf molekularer Ebene eine realistische Option (Thaker, 2007). Eine Voraussetzung hierfür ist, die unterschiedlichen Endophänotypen auszumachen und auf ihre Validität zu prüfen (Chan und Gottesman, 2008).

Mögliche krankheitsunabhängige Einfluss- und Störfaktoren, wie zum Beispiel der ethnischen Hintergrund der Testpersonen müssen im Vorfeld minimiert, wenn möglich ganz ausgeschlossen werden, oder in weiteren Studien mit Testpersonen anderen ethnischen Hintergründes überprüft werden. Auch durch neuere Theorien, die eine reduzierte AKT-GSK3 β -Signalgebung thematisieren, sind nur Teilbereiche der Pathologie der Erkrankung erklärbar. Um diese Theorie zu bekräftigen oder zu widerlegen sind darüber hinausgehende Betrachtungen vor allem der Phosphorylierungsverhältnisse einzelner Proteine in vivo angezeigt, die in direktem Zusammenhang mit der Signalkaskade stehen (Ide et al., 2006).

Da auch der AKT1-GSK3 β -Signalweg nicht allein durch AKT1 beeinflusst wird, ist es wichtig auch andere Gene, die hiermit in Zusammenhang stehen können, explizit unter Berücksichtigung einer Heterogenität in diesem Bereich, genauer zu betrachten (Ikeda et al., 2004, Schork et al., 2001).

Die vorhandenen Daten aus bereits durchgeführten Analysen und Metaanalysen sprechen für eine weitere Evaluation des Stellenwerts von AKT1 in der Schizophrenie. Auch die Prüfung anderer Einzelnukleotidpolymorphismen im Bereich des Gens scheint sinnvoll, um deren möglichen Beitrag zu Suszeptibilitätsgen AKT1 zu verifizieren. Die systematische Suche nach unterschiedlichen Mutationen anhand großer Stichproben trägt zu Aufklärung von Zusammenhängen zwischen Genetik und klinischer Erkrankung bei. Unter der Annahme, dass AKT1 eine Schlüsselrolle in der Schizophrenie spielt, ist es auch sinnvoll, die Auswirkungen

eines durch andere Krankheitsentitäten oder zum Beispiel iatrogen verursachten Ungleichgewichts im Bezug auf die Psychoseentstehung zu analysieren. Die Aufklärung ätiopathogenetischer Ursachen und deren Wechselwirkungen untereinander würden gänzlich neue Perspektiven in der Früherkennung, Prävention, der diagnostischen Möglichkeiten und Therapie der Schizophrenien ermöglichen. So wären Hochrisikogruppen leichter zu identifizieren und präventive und therapeutische Interventionen auf molekulargenetischer Ebene denkbar.

Um den genetischen Ursachen der Schizophrenieentstehung näher zukommen, sind weitere Analysen großer Stichproben und auch anderer SNPs nötig. Die Aussagen zu den SNPs dieser Studie müssen in Form zusätzlicher Untersuchungen und Replikationsstudien verifiziert werden. Voraussetzung sind angepasste Größen der Stichproben und die Ausschaltung von Störvariablen. Eine interessante Option wären auch differenzierte Untersuchungen gleicher SNPs bei verschiedenen Manifestationsformen der Schizophrenie. Damit wären eventuell Rückschlüsse der funktionellen Beeinträchtigung auf die morphologische Modifikation und umgekehrt möglich.

Um funktionelle Konsequenzen veränderter SNPs im AKT1-Gen zu detektieren, ist eine genaue Betrachtung der Lage des jeweiligen Polymorphismus innerhalb oder außerhalb kodierender Bereiche wichtig. Führt eine Variation unter Umständen zu einem veränderten Leseraster und zu einer Veränderung des Genproduktes, hat dies funktionelle Folgen für nachfolgende Signalwege. Hierbei sind aufgrund der vielfältigen Funktionen von AKT1 verschiedene Ansatzpunkte für entsprechende Tests möglich.

Das Ziel aller Bemühungen um eine Aufklärung von Ätiologie und Pathogenese der Schizophrenien ist die mittelfristige Nutzung der gewonnenen Erkenntnisse zu Gunsten der Betroffenen. Über das Verständnis von Entstehungsmechanismen sind Verbesserungen in Früherkennung, Prävention und Behandlung zu erwarten, um Erkrankten und deren sozialem Umfeld ein Mehr an Lebensqualität zu ermöglichen.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS UND FACHBEGRIFFE

A	Adenin
ACG	Kinasegruppe (z.B.PKA, PKC, PKG)
AH	AKT homology domain
AKT	V-akt murine thymoma viral oncogene homolog
APA	American Psychiatric association
ARC	Activity-regulated cytoskeleton-associated protein
AS	Aminosäure
Assay	Nachweistechnik aus der Molekularbiologie
ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
bp	Basenpaar
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
χ^2	Chi-Quadrat
C	Cytosin
Ca ²⁺	Kalziumion
CACNA1C	Calcium channel voltage-dependent L type alpha 1C subunit
CACNB2	Calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit
cAMP	Adenosinmonophosphat, zyklisch
Cdk1	Cyclin dependent kinase 1
cDNS	Komplementäre DNS (über RT aus RNS gebildet)
CEPH	Centre d'Étude du Polymorphisme Humain
Cl ⁻	Chloridion
CMYA5	Cardiomyopathy-associated 5
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
DA	Dopamin
ddNTP	Didesoxyribonukleosidtriphosphat
df	degrees of freedom
Disc1	Disrupted in schizophrenia 1
DNS	Deoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DRD1-4	Dopaminrezeptor Gen 1-4
dsDNS	Doppelsträngige DNS
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) der APA (Diagnostisches und Statistisches Handbuch Psychischer Störungen)
DTNBP1	Dystrobrevin binding protein 1, Dysbindin-Gen

Abkürzungsverzeichnis und Fachbegriffe

EDTA	Ethylendiamintetraacetat Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	Epidermal growth factor
ETDT	Extended transmission equilibriumtest
FHAM	Family history assessment module
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
F-Wert	Prüfwert aus dem F-Test
G	Guanin
GABA	Gamma amino butyric acid/ Gammaaminobuttersäure
GAS	Global assessment scale; Achse 5 des DSM-IV
GPCR	G-protein coupled receptor/ G-Protein gekoppelter Rezeptor
G-Protein	Guaninnukleotid-bindendes Protein
GRM	Glutamate receptor metabotropic
GTP	Guanosintriphosphat
GWA	Genomweite Assoziationsstudie
GRM	glutamate receptor metabotropic
GSK3	Glykogensynthasekinase 3
GSK3β	Glykogensynthasekinase 3-Beta
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991
HCl	Salzsäure
5-HT	Serotonin
5-HT-2A	Serotoninrezeptor 2A
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
ICD10	International Classification of Diseases Tenth Edition/ Internationales Krankheitsklassifikationssystem der WHO
iPLEX	Labortechnisches Verfahren zur Einzelbasenelongation
ISHDSF	Study of High-Density Schizophrenia Families
K ⁺	Kaliumion
kb	Kilobase
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumhydrogenphosphat
KI	Konfidenzintervall
LD	Linkage disequilibrium
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar

Abkürzungsverzeichnis und Fachbegriffe

LSD	Lysergsäurediethylamid
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Massenspektrometer
MANOVA	Multivariate Varianzanalyse
mbar	Millibar
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimol
MMST	Mini-Mental-Status-Test
mRNA	Messenger RNA
MRS	Proton magnetic resonance spectroscopy
MTOR	Mammalian/mechanistic target of rapamycin
n	Anzahl
Na ⁺	Natriumion
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NGF	Nerve growth factor
NIMH	National Institutes of Mental Health
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDAR	N-Methyl-D-aspartate receptor
nM	Nanomol
nm	Nanometer
NRG1	Neuregulin1
ns	Nanosekunde
OPCRIT	Operational criteria checklist for psychotic illness
OR	Odds Ratio
p	p-Wert/probability
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PBS	Phosphate Buffered Saline- Puffer/phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase chain reaction
PDGF	Platelet derived growth factor
PDK	Phosphoinositide-dependent kinase
PDT	Pedigree disequilibrium test
PFK/PFC	Präfrontaler Kortex/Cortex
PGC	Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics
pH	Wasserstoffionenkonzentration, negativer dekadischer Logarithmus
PH	Pleckstrin homology domain

Abkürzungsverzeichnis und Fachbegriffe

PI3K	Phosphoinositide-3 kinase
PIP-3	Phosphatidylinositol (3,4,5)-Trisphosphat
PKB	Proteinkinase B
PPI	Präpulsinhibition
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
q	Langer Arm eines Chromosoms
RAC-PK	Related to the A und C kinases
rs	Reference SNP-ID number
RT	Reverse Transkriptase
RNS	Ribonukleinsäure
rpm	Revolutions per minute
SAD-L	Schedule for affective disorder schizophrenia-lifetime version
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standardabweichung
SKID 1/2	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM- IV Achse I/II
SNP	Single-Nucleotid-Polymorphism/Einzel- Nukleotid-Polymorphismus
SPSS	Statistical Package for social science
T	Thymin
Taq	Thermophilus aquaticus
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
TOF	Time of flight /Flugzeit
TPH2	Tryptophan hydroxylase 2
Tris	Trisaminomethan
U	Unit
UTR	Untranslatierte Region
WHO	World Health Organisation /Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentrales Nervensystem
λ	Lambda/Wellenlänge
μM	Mikromol
μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunde

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Tab. 1	Einteilungsmöglichkeiten der schizophrenen Symptomatik
Tab. 2	Einteilung der Schizophrenie nach ICD-10
Tab. 3	Gegenüberstellung der in der Schizophreniebehandlung angewandten Neuroleptikaarten
Tab. 4	Aufschlüsselung des Erkrankungsrisikos für Schizophrenie, Einfluss durch den Verwandtschaftsgrad
Tab. 5	Das relative Risiko für Schizophrenie in Abhängigkeit vom Risikofaktor
Tab. 6	Gegenüberstellung der Charakteristika der Studienteilnehmer
Tab. 7	Aufstellung der verwendeten Materialien und Geräten inklusive ihrer Bezugsquellen und ihrem Verwendungszweck
Tab. 8	Aufstellung der Charakteristika der untersuchten SNPs
Tab. 9	Sequenzen der Primer und die Fragmentlänge pro SNP
Tab. 10	Verteilung der Genotypen in den untersuchten SNPs und entsprechende p- und F-Werte der 6 SNPs
Tab. 11	Gesamtüberblick über die Ergebnisse mit Angabe der entsprechenden p-Werte
Tab. 12	Vergleich der prozentualen Häufigkeiten der Genotypen der untersuchten SNPs
Tab. 13	Tabellarische Aufstellung einer Auswahl von Studien des letzten Jahrzehnts zur Assoziation zwischen Schizophrenie und AKT1 an verschiedenen Bevölkerungsgruppen

Abbildungen

Abb.1	Faktoren die sich statistisch auf die Langzeitprognose günstig auswirken
Abb. 2	Darstellung zu ätiopathogenetischen Vorstellungen der Schizophrenie
Abb. 3	schematische Darstellung der Gene, die mit einem erhöhten Risiko an Schizophrenie zu erkranken in Verbindung gebracht werden inklusive ihrer Einbindung in wichtige Signalwege.
Abb. 4	Schematischer Aufbau der Isoformen von PKB/AKT;
Abb. 5	Aktivierung von AKT über Pi3K-gesteuerte Mechanismen.
Abb. 6	Schematische Darstellung des Zellzyklus in Eukaryonten und seine Unterteilung in die vier Phasen
Abb. 7	Schematische Darstellung der Lage einzelner Gehirnteile
Abb. 8	Ablauf der PCR
Abb. 9	Schematische Darstellung des iPlex-Verfahrens.
Abb. 10	Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers
Abb. 11	Genotypverteilung Allel C-Träger vs. Homozygotie T von SNP rs1132975
Abb. 12	Die Allelverteilung in SNP rs1130233 ist signifikant
Abb. 13	Die Genotypenverteilung bei SNP rs1130233 zeigt einen Trend zur Signifikanz
Abb. 14	Vergleich der Häufigkeit der G-Allelträger mit der des homozygoten Genotypen AA für SNP rs1130233 ist signifikant
Abb. 15	graphische Darstellung der p-Werte von Allelverteilung, Genotypverteilung, und homozygoten Allelträgern für die untersuchten SNPs

LITERATURVERZEICHNIS

- ABI-DARGHAM, A., GIL, R., KRYSTAL, J., BALDWIN, R. M., SEIBYL, J. P., BOWERS, M., VAN DYCK, C. H., CHARNEY, D. S., INNIS, R. B. & LARUELLE, M. 1998. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry*, 155, 761-7.
- ABI-DARGHAM, A., KEGELES, L. S., ZEA-PONCE, Y., MAWLAWI, O., MARTINEZ, D., MITROPOULOU, V., O'FLYNN, K., KOENIGSBERG, H. W., VAN HEERTUM, R., COOPER, T., LARUELLE, M. & SIEVER, L. J. 2004. Striatal amphetamine-induced dopamine release in patients with schizotypal personality disorder studied with single photon emission computed tomography and [¹²³I]iodobenzamide. *Biol Psychiatry*, 55, 1001-6.
- ABI-DARGHAM, A. & MOORE, H. 2003. Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *Neuroscientist*, 9, 404-16.
- ABI-SAAB, W. M., D'SOUZA, D. C., MOGHADDAM, B. & KRYSTAL, J. H. 1998. The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 2, 104-9.
- ABRAHAM, A. G. & O'NEILL, E. 2014. PI3K/Akt-mediated regulation of p53 in cancer. *Biochem Soc Trans*, 42, 798-803.
- AGARWAL, M. L., AGARWAL, A., TAYLOR, W. R. & STARK, G. R. 1995. p53 controls both the G2/M and the G1 cell cycle checkpoints and mediates reversible growth arrest in human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, 8493-7.
- ALBUS, M., STRAUSS, A. & STIEGLITZ, R. D. 1990. Schizophrenia, schizotypal and delusional disorders (section F2): results of the ICD-10 field trial. *Pharmacopsychiatry*, 23 Suppl 4, 155-9.
- ALEMAN, A., KAHN, R. S. & SELTEN, J. P. 2003. Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*, 60, 565-71.
- ALESSI, D. R., ANDJELKOVIC, M., CAUDWELL, B., CRON, P., MORRICE, N., COHEN, P. & HEMMINGS, B. A. 1996. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. *EMBO J*, 15, 6541-51.
- ALKELAI, A., LUPOLI, S., GREENBAUM, L., GIEGLING, I., KOHN, Y., SARNER-KANYAS, K., BEN-ASHER, E., LANCET, D., RUJESCU, D., MACCIARDI, F. & LERER, B. 2011. Identification of new schizophrenia susceptibility loci in an ethnically homogeneous, family-based, Arab-Israeli sample. *FASEB J*, 25, 4011-23.
- ALLEN, N. C., BAGADE, S., MCQUEEN, M. B., IOANNIDIS, J. P., KAVVOURA, F. K., KHOURY, M. J., TANZI, R. E. & BERTRAM, L. 2008. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet*, 40, 827-34.

- ALON, T., HEMO, I., ITIN, A., PE'ER, J., STONE, J. & KESHET, E. 1995. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat Med*, 1, 1024-8.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000. DSM-IV-TR, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, ed 4, text revision (DSM-IV-TR), *American Psychiatric Association*, Washington
- ANDJELKOVIC, M., JAKUBOWICZ, T., CRON, P., MING, X. F., HAN, J. W. & HEMMINGS, B. A. 1996. Activation and phosphorylation of a pleckstrin homology domain containing protein kinase (RAC-PK/PKB) promoted by serum and protein phosphatase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 5699-704.
- ANDLIN-SOBOCKI, P., JONSSON, B., WITTCHEN, H. U. & OLESEN, J. 2005. Cost of disorders of the brain in Europe. *Eur J Neurol*, 12 Suppl 1, 1-27.
- ANDREASEN, N. C. 1999. A unitary model of schizophrenia: Bleuler's "fragmented phrene" as schizencephaly. *Arch Gen Psychiatry*, 56, 781-7.
- ARENCIBIA, J. M., PASTOR-FLORES, D., BAUER, A. F., SCHULZE, J. O. & BIONDI, R. M. 2013. AGC protein kinases: from structural mechanism of regulation to allosteric drug development for the treatment of human diseases. *Biochim Biophys Acta*, 1834, 1302-21.
- ARNSTEN, A. F. & LI, B. M. 2005. Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry*, 57, 1377-84.
- ARO, S., ARO, H. & KESKIMAKI, I. 1995. Socio-economic mobility among patients with schizophrenia or major affective disorder. A 17-year retrospective follow-up. *Br J Psychiatry*, 166, 759-67.
- ATTIA, J., IOANNIDIS, J. P., THAKKINSTIAN, A., MCEVOY, M., SCOTT, R. J., MINELLI, C., THOMPSON, J., INFANTE-RIVARD, C. & GUYATT, G. 2009a. How to use an article about genetic association: B: Are the results of the study valid? *JAMA*, 301, 191-7.
- ATTIA, J., IOANNIDIS, J. P., THAKKINSTIAN, A., MCEVOY, M., SCOTT, R. J., MINELLI, C., THOMPSON, J., INFANTE-RIVARD, C. & GUYATT, G. 2009b. How to use an article about genetic association: A: Background concepts. *JAMA*, 301, 74-81.
- ATTIA, J., IOANNIDIS, J. P., THAKKINSTIAN, A., MCEVOY, M., SCOTT, R. J., MINELLI, C., THOMPSON, J., INFANTE-RIVARD, C. & GUYATT, G. 2009c. How to use an article about genetic association: C: What are the results and will they help me in caring for my patients? *JAMA*, 301, 304-8.
- AUBRY, J. M., SCHWALD, M., BALLMANN, E. & KAREGE, F. 2009. Early effects of mood stabilizers on the Akt/GSK-3beta signaling pathway and on cell survival and proliferation. *Psychopharmacology (Berl)*, 205, 419-29.

- BADNER, J. A. & GERSHON, E. S. 2002. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 7, 405-11.
- BADNER, J. A. & GERSHON, E. S. 2002. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 7, 405-11.
- BAJESTAN, S. N., SABOURI, A. H., NAKAMURA, M., TAKASHIMA, H., KEIKHAEI, M. R., BEHDANI, F., FAYYAZI, M. R., SARGOLZAEI, M. R., BAJESTAN, M. N., SABOURI, Z., KHAYAMI, E., HAGHIGHI, S., HASHEMI, S. B., EIRAKU, N., TUFANI, H., NAJMABADI, H., ARIMURA, K., SANO, A. & OSAME, M. 2006. Association of AKT1 haplotype with the risk of schizophrenia in Iranian population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 141B, 383-6.
- BALU, D. T., CARLSON, G. C., TALBOT, K., KAZI, H., HILL-SMITH, T. E., EASTON, R. M., BIRNBAUM, M. J. & LUCKI, I. 2012. Akt1 deficiency in schizophrenia and impairment of hippocampal plasticity and function. *Hippocampus*, 22, 230-40.
- BALU, D. T. & LUCKI, I. 2009. Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev*, 33, 232-52.
- BARCH, D. M., CARTER, C. S., BRAVER, T. S., SABB, F. W., MACDONALD, A., 3RD, NOLL, D. C. & COHEN, J. D. 2001. Selective deficits in prefrontal cortex function in medication-naïve patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 58, 280-8.
- BARRETT, J. C., FRY, B., MALLER, J. & DALY, M. J. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21, 263-5.
- BATESON, G., JACKSON, D., HALEY, J., WEAKLAND, J.H. 1956. Toward a theory of schizophrenia. *Behav. Sci.*, 1, 251-264
- BÄUML, J., PITSCHER-WALZ, G. & SCHAUB, A. 2002. Schizophrenie –Pathogenese, Diagnostik und Therapie, Psychosoziale Therapien, Bremen, Schmauß, M.
- BAYER, T. A., FALKAI, P. & MAIER, W. 1999. Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis". *J Psychiatr Res*, 33, 543-8.
- BEASLEY, C., COTTER, D. & EVERALL, I. 2002. An investigation of the Wnt-signalling pathway in the prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *Schizophr Res*, 58, 63-7.
- BEAULIEU, J. M. 2007. Not only lithium: regulation of glycogen synthase kinase-3 by antipsychotics and serotonergic drugs. *Int J Neuropsychopharmacol*, 10, 3-6.
- BEAULIEU, J. M. 2012. A role for Akt and glycogen synthase kinase-3 as integrators of dopamine and serotonin neurotransmission in mental health. *J Psychiatry Neurosci*, 37, 7-16.
- BEAULIEU, J. M., GAINETDINOV, R. R. & CARON, M. G. 2009. Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 49, 327-47.

- BEAULIEU, J. M., SOTNIKOVA, T. D., MARION, S., LEFKOWITZ, R. J., GAINETDINOV, R. R. & CARON, M. G. 2005. An Akt/beta-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. *Cell*, 122, 261-73.
- BEAULIEU, J. M., SOTNIKOVA, T. D., YAO, W. D., KOCKERITZ, L., WOODGETT, J. R., GAINETDINOV, R. R. & CARON, M. G. 2004. Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 5099-104.
- BECKER, K. G., BARNES, K. C., BRIGHT, T. J. & WANG, S. A. 2004. The genetic association database. *Nat Genet*, 36, 431-2.
- BECKER, T. & KNAPP, M. 2004a. Maximum-likelihood estimation of haplotype frequencies in nuclear families. *Genet Epidemiol*, 27, 21-32.
- BECKER, T. & KNAPP, M. 2004b. A powerful strategy to account for multiple testing in the context of haplotype analysis. *Am J Hum Genet*, 75, 561-70.
- BELLACOSA, A., TESTA, J. R., MOORE, R. & LARUE, L. 2004. A portrait of AKT kinases: human cancer and animal models depict a family with strong individualities. *Cancer Biol Ther*, 3, 268-75.
- BELLACOSA, A., TESTA, J. R., STAAL, S. P. & TSICHLIS, P. N. 1991. A retroviral oncogene, akt, encoding a serine-threonine kinase containing an SH2-like region. *Science*, 254, 274-7.
- BERTOLINO, A., CAFORIO, G., PETRUZZELLA, V., LATORRE, V., RUBINO, V., DIMALTA, S., TORRACO, A., BLASI, G., QUARTESAN, R., MATTAY, V. S., CALLICOTT, J. H., WEINBERGER, D. R. & SCARABINO, T. 2006. Prefrontal dysfunction in schizophrenia controlling for COMT Val158Met genotype and working memory performance. *Psychiatry Res*, 147, 221-6.
- BLACKWOOD, D. H., FORDYCE, A., WALKER, M. T., ST CLAIR, D. M., PORTEOUS, D. J. & MUIR, W. J. 2001. Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am J Hum Genet*, 69, 428-33.
- BLASI, G., NAPOLITANO, F., URSINI, G., TAURISANO, P., ROMANO, R., CAFORIO, G., FAZIO, L., GELAO, B., DI GIORGIO, A., IACOVELLI, L., SINIBALDI, L., POPOLIZIO, T., USIELLO, A. & BERTOLINO, A. 2011. DRD2/AKT1 interaction on D2 c-AMP independent signaling, attentional processing, and response to olanzapine treatment in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108, 1158-63.
- BLEULER, E. 1908. Die Prognose der Dementia praecox (Schizophreniegruppe). *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychischgerichtliche Medizin*, 65, 436-464.
- BLEULER, E. 1911. Dementia Praecox or the Group of Schizophrenias. *International Universities Press, Translated by Zinkin J. New York, 1950*

- BORTZ, J. & DÖRING, N. 2006. Forschungsmethoden und Evaluation: für Human- und Sozialwissenschaftler. *Springer*, Berlin, Heidelberg
- BORTZ, J., SCHUSTER, C. & 2010. Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler, *Springer*, Berlin, Heidelberg
- BOSE, S., CHANDRAN, S., MIROCHA, J. M. & BOSE, N. 2006. The Akt pathway in human breast cancer: a tissue-array-based analysis. *Mod Pathol*, 19, 238-45.
- BOYD, J. H., PULVER, A. E. & STEWART, W. 1986. Season of birth: schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Bull*, 12, 173-86.
- BRAFF, D. L., GREENWOOD, T. A., SWERDLOW, N. R., LIGHT, G. A. & SCHORK, N. J. 2008. Advances in endophenotyping schizophrenia. *World Psychiatry*, 7, 11-8.
- BRAZIL, D. P., YANG, Z. Z. & HEMMINGS, B. A. 2004. Advances in protein kinase B signalling: AKTion on multiple fronts. *Trends Biochem Sci*, 29, 233-42.
- BREIER, A., SU, T. P., SAUNDERS, R., CARSON, R. E., KOLACHANA, B. S., DE BARTOLOMEIS, A., WEINBERGER, D. R., WEISENFELD, N., MALHOTRA, A. K., ECKELMAN, W. C. & PICKAR, D. 1997. Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 2569-74.
- BUDOWLE, B. & VAN DAAL, A. 2008. Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques*, 44, 603-8, 610.
- BUNNEY, W. E. & BUNNEY, B. G. 2000. Evidence for a compromised dorsolateral prefrontal cortical parallel circuit in schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*, 31, 138-46.
- BUTTON, K. S., IOANNIDIS, J. P., MOKRYSZ, C., NOSEK, B. A., FLINT, J., ROBINSON, E. S. & MUNAFO, M. R. 2013. Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nat Rev Neurosci*, 14, 365-76.
- BYRNE, M., AGERBO, E., BENNEDSEN, B., EATON, W. W. & MORTENSEN, P. B. 2007. Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res*, 97, 51-9.
- CADENHEAD, K. S., SWERDLOW, N. R., SHAFER, K. M., DIAZ, M. & BRAFF, D. L. 2000. Modulation of the startle response and startle laterality in relatives of schizophrenic patients and in subjects with schizotypal personality disorder: evidence of inhibitory deficits. *Am J Psychiatry*, 157, 1660-8.
- CALKINS, M. E., CURTIS, C. E., IACONO, W. G. & GROVE, W. M. 2004. Antisaccade performance is impaired in medically and psychiatrically healthy biological relatives of schizophrenia patients. *Schizophr Res*, 71, 167-78.
- CANNON, M., JONES, P. B. & MURRAY, R. M. 2002. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*, 159, 1080-92.

- CANNON, T. D., KAPRIO, J., LONNQVIST, J., HUTTUNEN, M. & KOSKENVUO, M. 1998. The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch Gen Psychiatry*, 55, 67-74.
- CANNON, T. D., ROSSO, I. M., HOLLISTER, J. M., BEARDEN, C. E., SANCHEZ, L. E. & HADLEY, T. 2000. A prospective cohort study of genetic and perinatal influences in the etiology of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 26, 351-66.
- CANTOR-GRAAE, E. 2007. The contribution of social factors to the development of schizophrenia: a review of recent findings. *Can J Psychiatry*, 52, 277-86.
- CANTOR-GRAAE, E. & SELTEN, J. P. 2005. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry*, 162, 12-24.
- CANUSO, C. M. & PANDINA, G. 2007. Gender and schizophrenia. *Psychopharmacol Bull*, 40, 178-90.
- CARDNO, A. G., MARSHALL, E. J., COID, B., MACDONALD, A. M., RIBCHESTER, T. R., DAVIES, N. J., VENTURI, P., JONES, L. A., LEWIS, S. W., SHAM, P. C., GOTTESMAN, II, FARMER, A. E., MCGUFFIN, P., REVELEY, A. M. & MURRAY, R. M. 1999. Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry*, 56, 162-8.
- CARLSSON, A. 1967. Neurohumoral transmission and neuropsychiatric disorders. *Int J Psychiatry*, 4, 218-9.
- CARLSSON, A. 1995. Neurocircuitries and neurotransmitter interactions in schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol*, 10 Suppl 3, 21-8.
- CARLSSON, A. & LINDQVIST, M. 1963. Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 20, 140-4.
- CARLSSON, A., WATERS, N., HOLM-WATERS, S., TEDROFF, J., NILSSON, M. & CARLSSON, M. L. 2001. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41, 237-60.
- CARMELIET, P. 2003. Blood vessels and nerves: common signals, pathways and diseases. *Nat Rev Genet*, 4, 710-20.
- CASTNER, S. A., GOLDMAN-RAKIC, P. S. & WILLIAMS, G. V. 2004. Animal models of working memory: insights for targeting cognitive dysfunction in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, 174, 111-25.
- CHAKRAVARTI, A. 1999. Population genetics--making sense out of sequence. *Nat Genet*, 21, 56-60.
- CHALECKA-FRANASZEK, E. & CHUANG, D. M. 1999. Lithium activates the serine/threonine kinase Akt-1 and suppresses glutamate-induced inhibition of Akt-1 activity in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 8745-50.

- CHAN, R. C. & GOTTESMAN, II 2008. Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neurosci Biobehav Rev*, 32, 957-71.
- CHANG, F., LEE, J. T., NAVOLANIC, P. M., STEELMAN, L. S., SHELTON, J. G., BLALOCK, W. L., FRANKLIN, R. A. & MCCUBREY, J. A. 2003. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Leukemia*, 17, 590-603.
- CHEN, G., HUANG, L. D., JIANG, Y. M. & MANJI, H. K. 1999. The mood-stabilizing agent valproate inhibits the activity of glycogen synthase kinase-3. *J Neurochem*, 72, 1327-30.
- CHEN, J., SOMANATH, P. R., RAZORENOVA, O., CHEN, W. S., HAY, N., BORNSTEIN, P. & BYZOVA, T. V. 2005. Akt1 regulates pathological angiogenesis, vascular maturation and permeability in vivo. *Nat Med*, 11, 1188-96.
- CHEN, X., LEE, G., MAHER, B. S., FANOUS, A. H., CHEN, J., ZHAO, Z., GUO, A., VAN DEN OORD, E., SULLIVAN, P. F., SHI, J., LEVINSON, D. F., GEJMAN, P. V., SANDERS, A., DUAN, J., OWEN, M. J., CRADDOCK, N. J., O'DONOVAN, M. C., BLACKMAN, J., LEWIS, D., KIROV, G. K., QIN, W., SCHWAB, S., WILDENAUER, D., CHOWDARI, K., NIMGAONKAR, V., STRAUB, R. E., WEINBERGER, D. R., O'NEILL, F. A., WALSH, D., BRONSTEIN, M., DARVASI, A., LENCZ, T., MALHOTRA, A. K., RUJESCU, D., GIEGLING, I., WERGE, T., HANSEN, T., INGASON, A., NOETHEN, M. M., RIETSCHER, M., CICHON, S., DJUROVIC, S., ANDREASSEN, O. A., CANTOR, R. M., OPHOFF, R., CORVIN, A., MORRIS, D. W., GILL, M., PATO, C. N., PATO, M. T., MACEDO, A., GURLING, H. M., MCQUILLIN, A., PIMM, J., HULTMAN, C., LICHTENSTEIN, P., SKLAR, P., PURCELL, S. M., SCOLNICK, E., ST CLAIR, D., BLACKWOOD, D. H. & KENDLER, K. S. 2011. GWA study data mining and independent replication identify cardiomyopathy-associated 5 (CMYA5) as a risk gene for schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 16, 1117-29.
- CHO, H., THORVALDSEN, J. L., CHU, Q., FENG, F. & BIRNBAUM, M. J. 2001. Akt1/PKBalpha is required for normal growth but dispensable for maintenance of glucose homeostasis in mice. *J Biol Chem*, 276, 38349-52.
- CHUBB, J. E., BRADSHAW, N. J., SOARES, D. C., PORTEOUS, D. J. & MILLAR, J. K. 2008. The DISC locus in psychiatric illness. *Mol Psychiatry*, 13, 36-64.
- CLAYTON, D. 1999. A generalization of the transmission/disequilibrium test for uncertain-haplotype transmission. *Am J Hum Genet*, 65, 1170-7.
- COFFER, P. J. & WOODGETT, J. R. 1991. Molecular cloning and characterisation of a novel putative protein-serine kinase related to the cAMP-dependent and protein kinase C families. *Eur J Biochem*, 201, 475-81.
- COMER, R. J. 2001. Klinische Psychologie, *Spektrum Akademischer Verlag, Springer*, Heidelberg, Berlin.

- COMPTON, M. T. 2004. Considering schizophrenia from a prevention perspective. *Am J Prev Med*, 26, 178-85.
- COYLE, J. T. 2012. NMDA receptor and schizophrenia: a brief history. *Schizophr Bull*, 38, 920-6.
- COYLE, J. T., BASU, A., BENNEYWORTH, M., BALU, D. & KONOPASKE, G. 2012. Glutamatergic synaptic dysregulation in schizophrenia: therapeutic implications. *Handb Exp Pharmacol*, 267-95.
- COYLE, J. T. & TSAI, G. 2004. NMDA receptor function, neuroplasticity, and the pathophysiology of schizophrenia. *Int Rev Neurobiol*, 59, 491-515.
- CRADDOCK, N., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2005. The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. *J Med Genet*, 42, 193-204.
- CRADDOCK, N., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2006. Genes for schizophrenia and bipolar disorder? Implications for psychiatric nosology. *Schizophr Bull*, 32, 9-16.
- CRADDOCK, N., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2007. Phenotypic and genetic complexity of psychosis. Invited commentary on ... Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. *Br J Psychiatry*, 190, 200-3.
- CRADDOCK, N., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2009. Psychosis genetics: modeling the relationship between schizophrenia, bipolar disorder, and mixed (or "schizoaffective") psychoses. *Schizophr Bull*, 35, 482-90.
- DATTA, S. R., BRUNET, A. & GREENBERG, M. E. 1999. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev*, 13, 2905-27.
- DAVIES, G., WELHAM, J., CHANT, D., TORREY, E. F. & MCGRATH, J. 2003. A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 29, 587-93.
- DAVIS, K. L., KAHN, R. S., KO, G. & DAVIDSON, M. 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*, 148, 1474-86.
- DAVIS, K. L., STEWART, D. G., FRIEDMAN, J. I., BUCHSBAUM, M., HARVEY, P. D., HOF, P. R., BUXBAUM, J. & HAROUTUNIAN, V. 2003. White matter changes in schizophrenia: evidence for myelin-related dysfunction. *Arch Gen Psychiatry*, 60, 443-56.
- DEAN, K. & MURRAY, R. M. 2005. Environmental risk factors for psychosis. *Dialogues Clin Neurosci*, 7, 69-80.
- DEHAY, C. & KENNEDY, H. 2007. Cell-cycle control and cortical development. *Nat Rev Neurosci*, 8, 438-50.
- DELISI, L. E. 2008. The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia. *Schizophr Bull*, 34, 312-21.

- DELISI, L. E., FRIEDRICH, U., WAHLSTROM, J., BOCCIO-SMITH, A., FORSMAN, A., EKLUND, K. & CROW, T. J. 1994. Schizophrenia and sex chromosome anomalies. *Schizophr Bull*, 20, 495-505.
- DELISI, L. E., SZULC, K. U., BERTISCH, H., MAJCHER, M., BROWN, K., BAPPAL, A., BRANCH, C. A. & ARDEKANI, B. A. 2006. Early detection of schizophrenia by diffusion weighted imaging. *Psychiatry Res*, 148, 61-6.
- DETERA-WADLEIGH, S. D. 2001. Lithium-related genetics of bipolar disorder. *Ann Med*, 33, 272-85.
- DIAZ-MATAIX, L., SCORZA, M. C., BORTOLOZZI, A., TOTH, M., CELADA, P. & ARTIGAS, F. 2005. Involvement of 5-HT1A receptors in prefrontal cortex in the modulation of dopaminergic activity: role in atypical antipsychotic action. *J Neurosci*, 25, 10831-43.
- DILLING, H., MOMBOUR, W.; SCHMIDT, M.H.; 2005. ICD-10 Kapitel V (F), *Huber*, Bern.
- DILLING, H. M., W.; SCHMIDT, M.H.; 2004. Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10. *Huber*, Bern
- DING, C. 2006. Qualitative and quantitative DNA and RNA analysis by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Methods Mol Biol*, 336, 59-71.
- DOWNWARD, J. 1998. Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr Opin Cell Biol*, 10, 262-7.
- DUAN, J., MARTINEZ, M., SANDERS, A. R., HOU, C., BURRELL, G. J., KRASNER, A. J., SCHWARTZ, D. B. & GEJMAN, P. V. 2007. DTNBP1 (Dystrobrevin binding protein 1) and schizophrenia: association evidence in the 3' end of the gene. *Hum Hered*, 64, 97-106.
- EASTON, R. M., CHO, H., ROOVERS, K., SHINEMAN, D. W., MIZRAHI, M., FORMAN, M. S., LEE, V. M., SZABOLCS, M., DE JONG, R., OLTERSDORF, T., LUDWIG, T., EFSTRATIADIS, A. & BIRNBAUM, M. J. 2005. Role for Akt3/protein kinase Bgamma in attainment of normal brain size. *Mol Cell Biol*, 25, 1869-78.
- EBERT, D. LOEW., T.; 2008. Psychiatrie systematisch, Klinische Lehrbuchreihe, *Uni-Med*, Bremen, London Boston.
- EDWARDS, A. W. 2008. G. H. Hardy (1908) and Hardy-Weinberg equilibrium. *Genetics*, 179, 1143-50.
- EGGERS, C., FEGERT, J. M. & RESCH, F. 2004. *Psychiatrie und Psychotherapie des Kindes- und Jugendalters*, Heidelberg.
- EMAMIAN, E. S., HALL, D., BIRNBAUM, M. J., KARAYIORGOU, M. & GOGOS, J. A. 2004. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia. *Nat Genet*, 36, 131-7.

- ENDICOTT, J., SPITZER, R. L., FLEISS, J. L. & COHEN, J. 1976. The global assessment scale. A procedure for measuring overall severity of psychiatric disturbance. *Arch Gen Psychiatry*, 33, 766-71.
- FAN, J. B., ZHANG, C. S., GU, N. F., LI, X. W., SUN, W. W., WANG, H. Y., FENG, G. Y., ST CLAIR, D. & HE, L. 2005. Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biol Psychiatry*, 57, 139-44.
- FARRELL, M. S., WERGE, T., SKLAR, P., OWEN, M. J., OPHOFF, R. A., O'DONOVAN, M. C., CORVIN, A., CICHON, S. & SULLIVAN, P. F. 2015. Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 20, 555-62.
- FERRARELLI, F. 2013. Endophenotypes and biological markers of schizophrenia: from biological signs of illness to novel treatment targets. *Curr Pharm Des*, 19, 6462-79.
- FIRST, M. B., SPITZER, R.L.; GIBBON, M.; WILLIAMS, J.B.W. 1996. *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV)*.
- FIRST, M. B. G., M.; SPITZER, R.L.; WILLIAMS, J.B.W.; BENJAMIN, L.S. 1997. *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis II Personality Disorders, (SCID-II)*, Washington,D.C.: American Psychiatric Press, Inc.
- FREYBERG, Z., FERRANDO, S. J. & JAVITCH, J. A. 2010. Roles of the Akt/GSK-3 and Wnt signaling pathways in schizophrenia and antipsychotic drug action. *Am J Psychiatry*, 167, 388-96.
- FUJIO, Y. & WALSH, K. 1999. Akt mediates cytoprotection of endothelial cells by vascular endothelial growth factor in an anchorage-dependent manner. *J Biol Chem*, 274, 16349-54.
- FUSAR-POLI, P. & POLITI, P. 2008. Paul Eugen Bleuler and the birth of schizophrenia (1908). *Am J Psychiatry*, 165, 1407.
- FYDRICH, T., RENNEBERG, B., SCHMITZ, B. & WITTCHEN, H.-U. 1997. *SKID-II. Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV. Achse II: Persönlichkeitsstörungen*, Göttingen.
- GABRIEL, S. Z., L.; TABBAA, D.; 2009. SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform. *Curr Protoc Hum Genet.*, Chapter 2:Unit 2.12. .
- GAEBEL, W. & WÖLWER, W. 2010. Schizophrenie, Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 50 *Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Robert Koch-Institut*, Berlin 2010
- GAROFALO, R. S., ORENA, S. J., RAFIDI, K., TORCHIA, A. J., STOCK, J. L., HILDEBRANDT, A. L., COSKRAN, T., BLACK, S. C., BREES, D. J., WICKS, J. R., MCNEISH, J. D. & COLEMAN, K. G. 2003. Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking Akt2/PKB beta. *J Clin Invest*, 112, 197-208.

- GEDDES, J. R. & LAWRIE, S. M. 1995. Obstetric complications and schizophrenia: a meta-analysis. *Br J Psychiatry*, 167, 786-93.
- GEDDES, J. R., VERDOUX, H., TAKEI, N., LAWRIE, S. M., BOVET, P., EAGLES, J. M., HEUN, R., MCCREADIE, R. G., MCNEIL, T. F., O'CALLAGHAN, E., STOBBER, G., WILLINGER, U. & MURRAY, R. M. 1999. Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis. *Schizophr Bull*, 25, 413-23.
- GERBER, H. P., MCMURTREY, A., KOWALSKI, J., YAN, M., KEYT, B. A., DIXIT, V. & FERRARA, N. 1998. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation. *J Biol Chem*, 273, 30336-43.
- GEY, M. H., 2015, Instrumentelle Analytik und Bioanalytik, Biosubstanzen, Trennmethoden, Strukturanalytik, Applikation, 11 Massenspektrometrie, *Springer Spektrum*, Berlin, Heidelberg.
- GIEGLING, I., HARTMANN, A. M., GENIUS, J., BENNINGHOFF, J., MOLLER, H. J. & RUJESCU, D. 2008. Systems biology and complex neurobehavioral traits. *Pharmacopsychiatry*, 41 Suppl 1, S32-6.
- GIEGLING, I., GENIUS, J., BENNINGHOFF, J. & RUJESCU, D. 2010. Genetic findings in schizophrenia patients related to alterations in the intracellular Ca-homeostasis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 34, 1375-80.
- GLEIXNER, C., MÜLLER, M. & WIRTH, S. B. 2011. *Neurologie und Psychiatrie für Studium und Praxis*, Breisach, Müller, M.
- GOGOS, J. A. & GERBER, D. J. 2006. Schizophrenia susceptibility genes: emergence of positional candidates and future directions. *Trends Pharmacol Sci*, 27, 226-33.
- GOLDMAN-RAKIC, P. S. & SELEMON, L. D. 1997. Functional and anatomical aspects of prefrontal pathology in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 23, 437-58.
- GOTTESMAN, II & GOULD, T. D. 2003. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*, 160, 636-45.
- GOTTESMAN, I.I., MCGUFFIN, P. & FARMER, A. E. 1987. Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull*, 13, 23-47.
- GOTTESMAN, I. I. GOULD, T.D.; 2003. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*, 160(4), 636-645.
- GOTTESMAN, I. I. SHIELDS, J.; MEEHL, P. E.; 1972. Schizophrenia and Genetics: A Twin Study Vantage Point. *Academic Press, Original von University of Michigan*
- GOTTESMAN, I. I. WOLFGRAM, D.L.; 1991, The origins of madness, *Freeman*, New York

- GOUZOUULIS-MAYFRANK, E., HEEKEREN, K., NEUKIRCH, A., STOLL, M., STOCK, C., OBRADOVIC, M. & KOVAR, K. A. 2005. Psychological effects of (S)-ketamine and N,N-dimethyltryptamine (DMT): a double-blind, cross-over study in healthy volunteers. *Pharmacopsychiatry*, 38, 301-11.
- GREEN, E. K., GROZEVA, D., JONES, I., JONES, L., KIROV, G., CAESAR, S., GORDON-SMITH, K., FRASER, C., FORTY, L., RUSSELL, E., HAMSHIRE, M. L., MOSKVINA, V., NIKOLOV, I., FARMER, A., MCGUFFIN, P., HOLMANS, P. A., OWEN, M. J., O'DONOVAN, M. C. & CRADDOCK, N. 2010. The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 15, 1016-22.
- GREEN, M. F., NUECHTERLEIN, K. H., GOLD, J. M., BARCH, D. M., COHEN, J., ESSOCK, S., FENTON, W. S., FRESE, F., GOLDBERG, T. E., HEATON, R. K., KEEFE, R. S., KERN, R. S., KRAEMER, H., STOVER, E., WEINBERGER, D. R., ZALCMAN, S. & MARDER, S. R. 2004. Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. *Biol Psychiatry*, 56, 301-7.
- GROSS, J. H. 2012. Massenspektrometrie Ein Lehrbuch; übersetzt von Karin Beifuss, *Springer, Spektrum*, Heidelberg.
- GULOTTA, T. BLOOM, M.; 2003. Encyclopedia of Primary Prevention and Health Promotion, *Springer*, New York.
- GUR, R. E., CALKINS, M. E., GUR, R. C., HORAN, W. P., NUECHTERLEIN, K. H., SEIDMAN, L. J. & STONE, W. S. 2007a. The Consortium on the Genetics of Schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Bull*, 33, 49-68.
- GUR, R. E., NIMGAONKAR, V. L., ALMASY, L., CALKINS, M. E., RAGLAND, J. D., POGUE-GEILE, M. F., KANES, S., BLANGERO, J. & GUR, R. C. 2007b. Neurocognitive endophenotypes in a multiplex multigenerational family study of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 164, 813-9.
- GURLING, H. M., KALSI, G., BRYNJOLFSON, J., SIGMUNDSSON, T., SHERRINGTON, R., MANKOO, B. S., READ, T., MURPHY, P., BLAVERI, E., MCQUILLIN, A., PETURSSON, H. & CURTIS, D. 2001. Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *Am J Hum Genet*, 68, 661-73.
- HÄFNER, H., 2005. *Das Rätsel Schizophrenie Eine Krankheit wird entschlüsselt*. C.H. Beck, München
- HAFF, L. A. & SMIRNOV, I. P. 1997. Single-nucleotide polymorphism identification assays using a thermostable DNA polymerase and delayed extraction MALDI-TOF mass spectrometry. *Genome Res*, 7, 378-88.

- HAFNER, H. & AN DER HEIDEN, W. 1999. The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 249 Suppl 4, 14-26.
- HAFNER, H., NOWOTNY, B., LOFFLER, W., AN DER HEIDEN, W. & MAURER, K. 1995. When and how does schizophrenia produce social deficits? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 246, 17-28.
- HALLMAYER, J. 2004. Getting our AKT together in schizophrenia? *Nat Genet*, 36, 115-6.
- HANNINEN, K., KATILA, H., SAARELA, M., RONTU, R., MATTILA, K. M., FAN, M., HURME, M. & LEHTIMAKI, T. 2008. Interleukin-1 beta gene polymorphism and its interactions with neuregulin-1 gene polymorphism are associated with schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 258, 10-5.
- HANRAHAN, A. J., SCHULTZ, N., WESTFAL, M. L., SAKR, R. A., GIRI, D. D., SCARPERI, S., JANAKIRAMAN, M., OLVERA, N., STEVENS, E. V., SHE, Q. B., AGHAJANIAN, C., KING, T. A., STANCHINA, E., SPRIGGS, D. R., HEGUY, A., TAYLOR, B. S., SANDER, C., ROSEN, N., LEVINE, D. A. & SOLIT, D. B. 2012. Genomic complexity and AKT dependence in serous ovarian cancer. *Cancer Discov*, 2, 56-67.
- HAP MAP NCBI. 2013. *International HapMap Project* [Online]. Available: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/thehapmap.html.en> [Accessed 15.07.2014 11.21].
- HARRISON, P. J. 2004. The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology (Berl)*, 174, 151-62.
- HARRISON, P. J. & WEINBERGER, D. R. 2005. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*, 10, 40-68; image 5.
- HERDEGEN, T. 2008. Kurzlehrbuch Pharmacologie und Toxikologie, *Thieme*, Stuttgart New York.
- HEROLD, C. & BECKER, T. 2009. Genetic association analysis with FAMHAP: a major program update. *Bioinformatics*, 25, 134-6.
- HESTON, L. L. 1966. Psychiatric disorders in foster home reared children of schizophrenic mothers. *Br J Psychiatry*, 112, 819-25.
- HILDEBRANDT, H. DORNBLÜTH, H.; PSCHYREMBEL, W.; 1998. *Pschyrembel, Klinisches Wörterbuch*, Berlin, New York.
- HILL, S. K., HARRIS, M. S., HERBENER, E. S., PAVULURI, M. & SWEENEY, J. A. 2008. Neurocognitive allied phenotypes for schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Bull*, 34, 743-59.

- HLOBILKOVA, A., KNILLOVA, J., SVACHOVA, M., SKYPALOVA, P., KRYSTOF, V. & KOLAR, Z. 2006. Tumour suppressor PTEN regulates cell cycle and protein kinase B/Akt pathway in breast cancer cells. *Anticancer Res*, 26, 1015-22.
- HODGKINSON, C. A., GOLDMAN, D., JAEGER, J., PERSAUD, S., KANE, J. M., LIPSKY, R. H. & MALHOTRA, A. K. 2004. Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1): association with schizophrenia, schizoaffective disorder, and bipolar disorder. *Am J Hum Genet*, 75, 862-72.
- HOFF, P. 2012. Eugen Bleuler's concept of schizophrenia and its relevance to present-day psychiatry. *Neuropsychobiology*, 66, 6-13.
- HORWOOD, J. M., DUFOUR, F., LAROCHE, S. & DAVIS, S. 2006. Signalling mechanisms mediated by the phosphoinositide 3-kinase/Akt cascade in synaptic plasticity and memory in the rat. *Eur J Neurosci*, 23, 3375-84.
- HOSKING, L., LUMSDEN, S., LEWIS, K., YEO, A., MCCARTHY, L., BANSAL, A., RILEY, J., PURVIS, I. & XU, C. F. 2004. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. *Eur J Hum Genet*, 12, 395-9.
- HUNTER, D. J. & KRAFT, P. 2007. Drinking from the fire hose--statistical issues in genomewide association studies. *N Engl J Med*, 357, 436-9.
- HUSI, H. & GRANT, S. G. 2001. Isolation of 2000-kDa complexes of N-methyl-D-aspartate receptor and postsynaptic density 95 from mouse brain. *J Neurochem*, 77, 281-91.
- HUSI, H., WARD, M. A., CHOUDHARY, J. S., BLACKSTOCK, W. P. & GRANT, S. G. 2000. Proteomic analysis of NMDA receptor-adhesion protein signaling complexes. *Nat Neurosci*, 3, 661-9.
- HWU, H. G., CHEN, C. C., STRAUSS, J. S., TAN, K. L., TSUANG, M. T. & TSENG, W. S. 1988. A comparative study on schizophrenia diagnosed by ICD-9 and DSM-III: course, family history and stability of diagnosis. *Acta Psychiatr Scand*, 77, 87-97.
- ICHIKAWA, J., ISHII, H., BONACCORSO, S., FOWLER, W. L., O'LAUGHLIN, I. A. & MELTZER, H. Y. 2001. 5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. *J Neurochem*, 76, 1521-31.
- IDE, M., OHNISHI, T., MURAYAMA, M., MATSUMOTO, I., YAMADA, K., IWAYAMA, Y., DEDOVA, I., TOYOTA, T., ASADA, T., TAKASHIMA, A. & YOSHIKAWA, T. 2006. Failure to support a genetic contribution of AKT1 polymorphisms and altered AKT signaling in schizophrenia. *J Neurochem*, 99, 277-87.
- IKEDA, M., IWATA, N., SUZUKI, T., KITAJIMA, T., YAMANOUCHI, Y., KINOSHITA, Y., INADA, T. & OZAKI, N. 2004. Association of AKT1 with schizophrenia confirmed in a Japanese population. *Biol Psychiatry*, 56, 698-700.
- INTERNATIONAL HAPMAP, C. 2003. The International HapMap Project. *Nature*, 426, 789-96.

- INTERNATIONAL SCHIZOPHRENIA, C., PURCELL, S. M., WRAY, N. R., STONE, J. L., VISSCHER, P. M., O'DONOVAN, M. C., SULLIVAN, P. F. & SKLAR, P. 2009. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460, 748-52.
- INVITROGEN, L. T., MOLECULAR PROBES. 2008. quant-iT™ PicoGreen dsDNA Reagent and Kits Quant-iT™ PicoGreen®dsDNA Assay Kit [Online]. Available:<http://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/P11496>, <http://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/mp07581.pdf> [Accessed 15.07.2014 11.18.
- JABLENSKY, A. 2000. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 250, 274-85.
- JAVITT, D. C. 2006. Is the glycine site half saturated or half unsaturated? Effects of glutamatergic drugs in schizophrenia patients. *Curr Opin Psychiatry*, 19, 151-7.
- JAWORSKI, J., SPANGLER, S., SEEBURG, D. P., HOOGENRAAD, C. C. & SHENG, M. 2005. Control of dendritic arborization by the phosphoinositide-3'-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin pathway. *J Neurosci*, 25, 11300-12.
- JOHNSON, S. M., GULHATI, P., RAMPY, B. A., HAN, Y., RYCHAHOU, P. G., DOAN, H. Q., WEISS, H. L. & EVERS, B. M. 2010. Novel expression patterns of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway components in colorectal cancer. *J Am Coll Surg*, 210, 767-76, 776-8.
- JONES, P. F., JAKUBOWICZ, T., PITOSI, F. J., MAURER, F. & HEMMINGS, B. A. 1991. Molecular cloning and identification of a serine/threonine protein kinase of the second-messenger subfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88, 4171-5.
- JOO, E. J., LEE, K. Y., JEONG, S. H., ROH, M. S., KIM, S. H., AHN, Y. M. & KIM, Y. S. 2009. AKT1 Gene Polymorphisms and Obstetric Complications in the Patients with Schizophrenia. *Psychiatry Investig*, 6, 102-7.
- KALKMAN, H. O. 2006. The role of the phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B pathway in schizophrenia. *Pharmacol Ther*, 110, 117-34.
- KALLMANN, F. J. 1946. The genetic theory of schizophrenia; an analysis of 691 schizophrenic twin index families. *Am J Psychiatry*, 103, 309-22.
- KAMPS, U. *Chi-Quadrat-Test*. [Online]. Available: <http://wirtschaftslexikon.gabler.de/Definition/chi-quadrat-test.html>. [Accessed 15.07.2014 11.17.
- KANDEL, E. S. & HAY, N. 1999. The regulation and activities of the multifunctional serine/threonine kinase Akt/PKB. *Exp Cell Res*, 253, 210-29.
- KANDEL, E. S., SKEEN, J., MAJEWSKI, N., DI CRISTOFANO, A., PANDOLFI, P. P., FELICIANO, C. S., GARTEL, A. & HAY, N. 2002. Activation of Akt/protein kinase B overcomes a G(2)/m cell cycle checkpoint induced by DNA damage. *Mol Cell Biol*, 22, 7831-41.

- KAPUR, S. & REMINGTON, G. 1996. Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 153, 466-76.
- KARAS, M. & HILLENKAMP, F. 1988. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem*, 60, 2299-301.
- KAREGE, F., PERROUD, N., BURKHARDT, S., SCHWALD, M., BALLMANN, E., LA HARPE, R. & MALAFOSSE, A. 2007. Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3beta in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Biol Psychiatry*, 61, 240-5.
- KAREGE, F., PERROUD, N., SCHURHOFF, F., MEARY, A., MARILLIER, G., BURKHARDT, S., BALLMANN, E., FERNANDEZ, R., JAMAIN, S., LEBOYER, M., LA HARPE, R. & MALAFOSSE, A. 2010. Association of AKT1 gene variants and protein expression in both schizophrenia and bipolar disorder. *Genes Brain Behav*, 9, 503-11.
- KAY, S. R., FISZBEIN, A. & OPLER, L. A. 1987. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*, 13, 261-76.
- KENDLER, K. S. & DIEHL, S. R. 1993. The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr Bull*, 19, 261-85.
- KENDLER, K. S. & GARDNER, C. O. 1997. The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies. *Psychol Med*, 27, 411-9.
- KENDLER, K. S., MCGUIRE, M., GRUENBERG, A. M., O'HARE, A., SPELLMAN, M. & WALSH, D. 1993. The Roscommon Family Study. I. Methods, diagnosis of probands, and risk of schizophrenia in relatives. *Arch Gen Psychiatry*, 50, 527-40.
- KENDLER, K. S., MCGUIRE, M., GRUENBERG, A. M. & WALSH, D. 1995. Schizotypal symptoms and signs in the Roscommon Family Study. Their factor structure and familial relationship with psychotic and affective disorders. *Arch Gen Psychiatry*, 52, 296-303.
- KENDLER, K. S., TSUANG, M. T. & HAYS, P. 1987. Age at onset in schizophrenia. A familial perspective. *Arch Gen Psychiatry*, 44, 881-90.
- KERI, S., BENICZKY, S. & KELEMEN, O. 2010. Suppression of the P50 evoked response and neuregulin 1-induced AKT phosphorylation in first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 167, 444-50.
- KERI, S., SERES, I., KELEMEN, O. & BENEDEK, G. 2011. The relationship among neuregulin 1-stimulated phosphorylation of AKT, psychosis proneness, and habituation of arousal in nonclinical individuals. *Schizophr Bull*, 37, 141-7.
- KETY, S. S., ROSENTHAL, D., WENDER, P. H. & SCHULSINGER, F. 1971. Mental illness in the biological and adoptive families of adopted schizophrenics. *Am J Psychiatry*, 128, 302-6.

- KETY, S. S., ROSENTHAL, D., WENDER, P. H. & SCHULSINGER, F. 1976. Studies based on a total sample of adopted individuals and their relatives: why they were necessary, what they demonstrated and failed to demonstrate. *Schizophr Bull*, 2, 413-28.
- KETY, S. S., ROSENTHAL, D., WENDER, P. H., SCHULSINGER, F. & JACOBSEN, B. 1975. Mental illness in the biological and adoptive families of adopted individuals who have become schizophrenic: a preliminary report based on psychiatric interviews. *Proc Annu Meet Am Psychopathol Assoc*, 147-65.
- KIETZMANN, T., KNABE, W. & SCHMIDT-KASTNER, R. 2001. Hypoxia and hypoxia-inducible factor modulated gene expression in brain: involvement in neuroprotection and cell death. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 251, 170-8.
- KIM, A. H., YANO, H., CHO, H., MEYER, D., MONKS, B., MARGOLIS, B., BIRNBAUM, M. J. & CHAO, M. V. 2002. Akt1 regulates a JNK scaffold during excitotoxic apoptosis. *Neuron*, 35, 697-709.
- KINNEY, D. K., LEVY, D. L., YURGELUN-TODD, D. A., TRAMER, S. J. & HOLZMAN, P. S. 1998. Inverse relationship of perinatal complications and eye tracking dysfunction in relatives of patients with schizophrenia: evidence for a two-factor model. *Am J Psychiatry*, 155, 976-8.
- KIROV, G., RUJESCU, D., INGASON, A., COLLIER, D. A., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2009. Neurexin 1 (NRXN1) deletions in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 35, 851-4.
- KIROV, G., POCKLINGTON, A. J., HOLMANS, P., IVANOV, D., IKEDA, M., RUDERFER, D., MORAN, J., CHAMBERT, K., TONCHEVA, D., GEORGIEVA, L., GROZEVA, D., FJODOROVA, M., WOLLERTON, R., REES, E., NIKOLOV, I., VAN DE LAGEMAAT, L. N., BAYES, A., FERNANDEZ, E., OLASON, P. I., BOTTCHE, Y., KOMIYAMA, N. H., COLLINS, M. O., CHOUDHARY, J., STEFANSSON, K., STEFANSSON, H., GRANT, S. G., PURCELL, S., SKLAR, P., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2012. De novo CNV analysis implicates specific abnormalities of postsynaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 17, 142-53.
- KISSLING, W., HOFFLER, J., SEEMANN, U., MULLER, P., RUTHER, E., TRENCKMANN, U., UBER, A., GRAF VON DER SCHULENBURG, J. M., GLASER, P., GLASER, T., MAST, O. & SCHMIDT, D. 1999. [Direct and indirect costs of schizophrenia]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 67, 29-36.
- KORNHUBER, J. 1990. Glutamate and schizophrenia. *Trends Pharmacol Sci*, 11, 357.
- KOZLOVSKY, N., BELMAKER, R. H. & AGAM, G. 2000. Low GSK-3 β immunoreactivity in postmortem frontal cortex of schizophrenic patients. *Am J Psychiatry*, 157, 831-3.
- KOZLOVSKY, N., BELMAKER, R. H. & AGAM, G. 2001. Low GSK-3 activity in frontal cortex of schizophrenic patients. *Schizophr Res*, 52, 101-5.

- KOZLOVSKY, N., BELMAKER, R. H. & AGAM, G. 2002. GSK-3 and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*, 12, 13-25.
- KOZLOVSKY, N., NADRI, C. & AGAM, G. 2005. Low GSK-3beta in schizophrenia as a consequence of neurodevelopmental insult. *Eur Neuropsychopharmacol*, 15, 1-11.
- KOZLOVSKY, N., SHANON-WEICKERT, C., TOMASKOVIC-CROOK, E., KLEINMAN, J. E., BELMAKER, R. H. & AGAM, G. 2004. Reduced GSK-3beta mRNA levels in postmortem dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenic patients. *J Neural Transm*, 111, 1583-92.
- KRISTIANSEN, L. V., HUERTA, I., BENEYTO, M. & MEADOR-WOODRUFF, J. H. 2007. NMDA receptors and schizophrenia. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 48-55.
- KRYSTAL, J. H., KARPER, L. P., SEIBYL, J. P., FREEMAN, G. K., DELANEY, R., BREMNER, J. D., HENINGER, G. R., BOWERS, M. B., JR. & CHARNEY, D. S. 1994. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*, 51, 199-214.
- KUCKARTZ, U. R., S.; EBERT, T.; SCHEHL, J.; 2010. *Statistik*, Wiesbaden.
- KUHN, R. 2004. Eugen Bleuler's concepts of psychopathology. *Hist Psychiatry*, 15, 361-6.
- KUMAR, C. C. & MADISON, V. 2005. AKT crystal structure and AKT-specific inhibitors. *Oncogene*, 24, 7493-501.
- KYZIRIDIS, T. C. 2005. Notes on the History of Schizophrenia, *German Journal of Psychiatry* · <http://www.gjpsy.uni-goettingen.de> · ISSN 1433-1055. 3, 42-48.
- LAI, W. S., XU, B., WESTPHAL, K. G., PATERLINI, M., OLIVIER, B., PAVLIDIS, P., KARAYIORGOU, M. & GOGOS, J. A. 2006. Akt1 deficiency affects neuronal morphology and predisposes to abnormalities in prefrontal cortex functioning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 16906-11.
- LANG, U. E., PULS, I., MULLER, D. J., STRUTZ-SEEBOHM, N. & GALLINAT, J. 2007. Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*, 20, 687-702.
- LAPLANTE, M. & SABATINI, D. M. 2012. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 149, 274-93.
- LARUELLE, M., ABI-DARGHAM, A., CASANOVA, M. F., TOTI, R., WEINBERGER, D. R. & KLEINMAN, J. E. 1993. Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia. A postmortem study. *Arch Gen Psychiatry*, 50, 810-8.
- LARUELLE, M., ABI-DARGHAM, A., VAN DYCK, C. H., GIL, R., D'SOUZA, C. D., ERDOS, J., MCCANCE, E., ROSENBLATT, W., FINGADO, C., ZOGHBI, S. S., BALDWIN, R. M., SEIBYL, J. P., KRYSTAL, J. H., CHARNEY, D. S. & INNIS, R. B. 1996. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-

- induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 9235-40.
- LARUELLE, M. 1998. Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q J Nucl Med*, 42, 211-21.
- LAW, A. J., LIPSKA, B. K., WEICKERT, C. S., HYDE, T. M., STRAUB, R. E., HASHIMOTO, R., HARRISON, P. J., KLEINMAN, J. E. & WEINBERGER, D. R. 2006. Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 6747-52.
- LAWLOR, M. A. & ALESSI, D. R. 2001. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? *J Cell Sci*, 114, 2903-10.
- LAWRIE, S. M. & ABUKMEIL, S. S. 1998. Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry*, 172, 110-20.
- LEE, K. Y., JOO, E. J., JEONG, S. H., KANG, U. G., ROH, M. S., KIM, S. H., SONG, J. Y., HWANG, J. Y., KIM, S. G., LEE, N., AHN, Y. M. & KIM, Y. S. 2010. No association between AKT1 polymorphism and schizophrenia: a case-control study in a Korean population and a meta-analysis. *Neurosci Res*, 66, 238-45.
- LEE, M. Y., LUCIANO, A. K., ACKAH, E., RODRIGUEZ-VITA, J., BANCROFT, T. A., EICHMANN, A., SIMONS, M., KYRIAKIDES, T. R., MORALES-RUIZ, M. & SESSA, W. C. 2014. Endothelial Akt1 mediates angiogenesis by phosphorylating multiple angiogenic substrates. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111, 12865-70.
- LEWANDOWSKI, K. E. 2007. Relationship of catechol-O-methyltransferase to schizophrenia and its correlates: evidence for associations and complex interactions. *Harv Rev Psychiatry*, 15, 233-44.
- LEVINSON, D. F., DUAN, J., OH, S., WANG, K., SANDERS, A. R., SHI, J., ZHANG, N., MOWRY, B. J., OLINCY, A., AMIN, F., CLONINGER, C. R., SILVERMAN, J. M., BUCCOLA, N. G., BYERLEY, W. F., BLACK, D. W., KENDLER, K. S., FREEDMAN, R., DUDBRIDGE, F., PE'ER, I., HAKONARSON, H., BERGEN, S. E., FANOUS, A. H., HOLMANS, P. A. & GEJMAN, P. V. 2011. Copy number variants in schizophrenia: confirmation of five previous findings and new evidence for 3q29 microdeletions and VIPR2 duplications. *Am J Psychiatry*, 168, 302-16.
- LEWIS, C. M., LEVINSON, D. F., WISE, L. H., DELISI, L. E., STRAUB, R. E., HOVATTA, I., WILLIAMS, N. M., SCHWAB, S. G., PULVER, A. E., FARAONE, S. V., BRZUSTOWICZ, L. M., KAUFMANN, C. A., GARVER, D. L., GURLING, H. M., LINDHOLM, E., COON, H., MOISES, H. W., BYERLEY, W., SHAW, S. H., MESEN, A., SHERRINGTON, R., O'NEILL, F. A., WALSH, D., KENDLER, K. S., EKELUND, J., PAUNIO, T., LONNQVIST, J., PELTONEN, L., O'DONOVAN, M. C., OWEN, M. J., WILDENAUER, D. B., MAIER, W., NESTADT, G., BLOUIN, J. L., ANTONARAKIS, S. E., MOWRY, B. J., SILVERMAN, J. M., CROWE, R. R., CLONINGER, C. R., TSUANG, M. T., MALASPINA, D., HARKAVY-FRIEDMAN, J. M., SVRAKIC, D. M., BASSETT, A. S., HOLCOMB, J., KALSI, G.,

- MCQUILLIN, A., BRYNJOLFSON, J., SIGMUNDSSON, T., PETURSSON, H., JAZIN, E., ZOEGA, T. & HELGASON, T. 2003. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 73, 34-48.
- LEWIS, D. A. & GONZALEZ-BURGOS, G. 2008. Neuroplasticity of neocortical circuits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 33, 141-65.
- LEWIS, G., DAVID, A., ANDREASSON, S. & ALLEBECK, P. 1992. Schizophrenia and city life. *Lancet*, 340, 137-40.
- LI, D. & HE, L. 2007. Association study between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res*, 96, 112-8.
- LI, X., ZHU, W., ROH, M. S., FRIEDMAN, A. B., ROSBOROUGH, K. & JOPE, R. S. 2004. In vivo regulation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) by serotonergic activity in mouse brain. *Neuropsychopharmacology*, 29, 1426-31.
- LIDZ, T., CORNELISON, A. R., FLECK, S. & TERRY, D. 1957. The intrafamilial environment of schizophrenic patients. II. Marital schism and marital skew. *Am J Psychiatry*, 114, 241-8.
- LIN, B. K., CLYNE, M., WALSH, M., GOMEZ, O., YU, W., GWINN, M. & KHOURY, M. J. 2006. Tracking the epidemiology of human genes in the literature: the HuGE Published Literature database. *Am J Epidemiol*, 164, 1-4.
- LINDHURST, M. J., SAPP, J. C., TEER, J. K., JOHNSTON, J. J., FINN, E. M., PETERS, K., TURNER, J., CANNONS, J. L., BICK, D., BLAKEMORE, L., BLUMHORST, C., BROCKMANN, K., CALDER, P., CHERMAN, N., DEARDORFF, M. A., EVERMAN, D. B., GOLAS, G., GREENSTEIN, R. M., KATO, B. M., KEPPLER-NOREUIL, K. M., KUZNETSOV, S. A., MIYAMOTO, R. T., NEWMAN, K., NG, D., O'BRIEN, K., ROTHENBERG, S., SCHWARTZENTRUBER, D. J., SINGHAL, V., TIRABOSCO, R., UPTON, J., WIENTROUB, S., ZACKAI, E. H., HOAG, K., WHITEWOOD-NEAL, T., ROBEY, P. G., SCHWARTZBERG, P. L., DARLING, T. N., TOSI, L. L., MULLIKIN, J. C. & BIESECKER, L. G. 2011. A mosaic activating mutation in AKT1 associated with the Proteus syndrome. *N Engl J Med*, 365, 611-9.
- LIPSKA, B. K., CHRAPUSTA, S. J., EGAN, M. F. & WEINBERGER, D. R. 1995. Neonatal excitotoxic ventral hippocampal damage alters dopamine response to mild repeated stress and to chronic haloperidol. *Synapse*, 20, 125-30.
- LIU, Y. C., HUANG, C. L., WU, P. L., CHANG, Y. C., HUANG, C. H. & LANE, H. Y. 2009. Lack of association between AKT1 variances versus clinical manifestations and social function in patients with schizophrenia. *J Psychopharmacol*, 23, 937-43.
- LIU, Y. L., FANN, C. S., LIU, C. M., WU, J. Y., HUNG, S. I., CHAN, H. Y., CHEN, J. J., PAN, C. C., LIU, S. K., HSIEH, M. H., HWANG, T. J., OUYANG, W. C., CHEN, C. Y., LIN, J. J., CHOU, F. H., CHUEH, C. M., LIU, W. M., TSUANG, M. M., FARAONE, S. V., TSUANG, M. T., CHEN, W. J. & HWU, H. G. 2006. Absence of significant associations between four AKT1 SNP markers and schizophrenia in the Taiwanese population. *Psychiatr Genet*, 16, 39-41.

- LYMER, G. K., JOB, D. E., WILLIAM, T., MOORHEAD, J., MCINTOSH, A. M., OWENS, D. G., JOHNSTONE, E. C. & LAWRIE, S. M. 2006. Brain-behaviour relationships in people at high genetic risk of schizophrenia. *Neuroimage*, 33, 275-85.
- LOH, H. C., CHOW, T. J., TANG, P. Y. & YONG, H. S. 2013. No association between AKT1 gene variants and schizophrenia: a Malaysian case-control study and meta-analysis. *Psychiatry Res*, 209, 732-3.
- MACINTYRE, D. J., BLACKWOOD, D. H., PORTEOUS, D. J., PICKARD, B. S. & MUIR, W. J. 2003. Chromosomal abnormalities and mental illness. *Mol Psychiatry*, 8, 275-87.
- MACMAHON, B. PUGH., T.F.; 1970. Epidemiology: Principles and Methods, *Little, Brown, and Company*, Boston
- MAGNO, L. A., MIRANDA, D. M., NEVES, F. S., PIMENTA, G. J., MELLO, M. P., DE MARCO, L. A., CORREA, H. & ROMANO-SILVA, M. A. 2010. Association between AKT1 but not AKTIP genetic variants and increased risk for suicidal behavior in bipolar patients. *Genes Brain Behav*, 9, 411-8.
- MAHAJAN, K. & MAHAJAN, N. P. 2012. PI3K-independent AKT activation in cancers: a treasure trove for novel therapeutics. *J Cell Physiol*, 227, 3178-84.
- MAHAN, A. L. & RESSLER, K. J. 2012. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. *Trends Neurosci*, 35, 24-35.
- MANSOUR, H. A., ALDA, M. & NIMGAONKAR, V. L. 2002. Pharmacogenetics of bipolar disorder. *Curr Psychiatry Rep*, 4, 117-23.
- MARNEROS, A. DEISTER, A.; ROHDE, A.; 1991. Affektive, schizoaffektive und schizophrene Psychosen.Eine vergleichende Langzeitstudie. *Springer*, Berlin, Heidelberg.
- MARSMAN, A., MANDL, R. C., KLOMP, D. W., BOHLKEN, M. M., BOER, V. O., ANDREYCHENKO, A., CAHN, W., KAHN, R. S., LUIJTEN, P. R. & HULSHOFF POL, H. E. 2014. GABA and glutamate in schizophrenia: A 7 T (1)H-MRS study. *Neuroimage Clin*, 6, 398-407.
- MAURER, H. 1995. *Epidemiologie positiver und negativer Symptome in der Schizophrenie*, Stuttgart, Jena, New York.
- MAYO, L. D. & DONNER, D. B. 2001. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 11598-603.
- MCCARLEY, R. W., WIBLE, C. G., FRUMIN, M., HIRAYASU, Y., LEVITT, J. J., FISCHER, I. A. & SHENTON, M. E. 1999. MRI anatomy of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 45, 1099-119.
- MCCLELLAN, J. M., SUSSER, E. & KING, M. C. 2007. Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. *Br J Psychiatry*, 190, 194-9.

- veeMCNEIL, T. F., CANTOR-GRAAE, E. & WEINBERGER, D. R. 2000. Relationship of obstetric complications and differences in size of brain structures in monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 157, 203-12.
- MELTZER, H. Y. 1987. Biological studies in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 13, 77-111.
- MEYER-LINDENBERG, A., NICHOLS, T., CALLICOTT, J. H., DING, J., KOLACHANA, B., BUCKHOLTZ, J., MATTAY, V. S., EGAN, M. & WEINBERGER, D. R. 2006. Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. *Mol Psychiatry*, 11, 867-77, 797.
- MIRNICS, K. 2001. Microarrays in brain research: the good, the bad and the ugly. *Nat Rev Neurosci*, 2, 444-7.
- MISSALE, C., NASH, S. R., ROBINSON, S. W., JABER, M. & CARON, M. G. 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, 78, 189-225.
- MÖLLER, H.-J. 2005a. Schizophrenie, *Thieme*, Stuttgart.
- MÖLLER, H. J. 2005b. Antipsychotic agents. Gradually improving treatment from the traditional oral neuroleptics to the first atypical depot. *Eur Psychiatry*, 20, 379-85.
- MÖLLER, H. J. 2009. Standardised rating scales in psychiatry: methodological basis, their possibilities and limitations and descriptions of important rating scales. *World J Biol Psychiatry*, 10, 6-26.
- MÖLLER, H.-J., LAUX, G. & KAPFHAMMER, H.-P, 2011. Psychiatrie Psychosomatik Psychotherapie. *Springer*, Heidelberg
- MÖLLER, H.-J. LAUX., G.; DEISTER, A. & 2009. *Duale Reihe. Psychiatrie und Psychotherapie*, *Thieme*, Stuttgart.
- MORALES-RUIZ, M., FULTON, D., SOWA, G., LANGUINO, L. R., FUJIO, Y., WALSH, K. & SESSA, W. C. 2000. Vascular endothelial growth factor-stimulated actin reorganization and migration of endothelial cells is regulated via the serine/threonine kinase Akt. *Circ Res*, 86, 892-6.
- MOWRY, B. J., HOLMANS, P. A., PULVER, A. E., GEJMAN, P. V., RILEY, B., WILLIAMS, N. M., LAURENT, C., SCHWAB, S. G., WILDENAUER, D. B., BAUCHE, S., OWEN, M. J., WORMLEY, B., SANDERS, A. R., NESTADT, G., LIANG, K. Y., DUAN, J., RIBBLE, R., NORTON, N., SOUBIGOU, S., MAIER, W., EWEN-WHITE, K. R., DEMARCHI, N., CARPENTER, B., WALSH, D., WILLIAMS, H., JAY, M., ALBUS, M., NERTNEY, D. A., PAPADIMITRIOU, G., O'NEILL, A., O'DONOVAN, M. C., DELEUZE, J. F., LERER, F. B., DIKEOS, D., KENDLER, K. S., MALLET, J., SILVERMAN, J. M., CROWE, R. R. & LEVINSON, D. F. 2004. Multicenter linkage study of schizophrenia loci on chromosome 22q. *Mol Psychiatry*, 9, 784-95.
- MULLIS, K., FALOONA, F., SCHARF, S., SAIKI, R., HORN, G. & ERLICH, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 51 Pt 1, 263-73.

- MULLIS, K. B. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*, 262, 56-61, 64-5.
- MUNAFO, M. R., ATTWOOD, A. S. & FLINT, J. 2008. Neuregulin 1 genotype and schizophrenia. *Schizophr Bull*, 34, 9-12.
- MURRAY, C. J. & LOPEZ, A. D. 1996. Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science*, 274, 740-3.
- NAKAI, T., NAGAI, T., TANAKA, M., ITOH, N., ASAI, N., ENOMOTO, A., ASAI, M., YAMADA, S., SAIFULLAH, A. B., SOKABE, M., TAKAHASHI, M. & YAMADA, K. 2014. Girdin phosphorylation is crucial for synaptic plasticity and memory: a potential role in the interaction of BDNF/TrkB/Akt signaling with NMDA receptor. *J Neurosci*, 34, 14995-5008.
- NATURE EDUCATION. 2013. *Hardy-Weinberg equation (scitable)* [Online]. Available: www.nature.com/scitable/definition/hardy-weinberg-equation-299 [Accessed 15.07.2014 10.18].
- NCBI. 2013. PCR [Online]. Available: www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/probe/doc/TechPCR.shtml [Accessed 15.07.2014 10.47].
Gen 207 [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/207> [Accessed 15.07.2014 10.49].
- NCBI. 2014. dbSNP short genetic variations [Online]. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2494732;
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1132975;
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2494746;
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2494743;
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=3730358;
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1130233
[Accessed 02.12.2014 10.58].
- NELSON, M. D., SAYKIN, A. J., FLASHMAN, L. A. & RIORDAN, H. J. 1998. Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry*, 55, 433-40.
- NG, M. Y., LEVINSON, D. F., FARAONE, S. V., SUAREZ, B. K., DELISI, L. E., ARINAMI, T., RILEY, B., PAUNIO, T., PULVER, A. E., IRMANSYAH, HOLMANS, P. A., ESCAMILLA, M., WILDENAUER, D. B., WILLIAMS, N. M., LAURENT, C., MOWRY, B. J., BRZUSTOWICZ, L. M., MAZIADÉ, M., SKLAR, P., GARVER, D. L., ABECASIS, G. R., LERER, B., FALLIN, M. D., GURLING, H. M., GEJMAN, P. V., LINDHOLM, E., MOISES, H. W., BYERLEY, W., WIJSMAN, E. M., FORABOSCO, P., TSUANG, M. T., HWU, H. G., OKAZAKI, Y., KENDLER, K. S., WORMLEY, B., FANOUS, A., WALSH, D., O'NEILL, F. A., PELTONEN, L., NESTADT, G., LASSETER, V. K., LIANG, K. Y., PAPADIMITRIOU, G. M., DIKEOS, D. G., SCHWAB, S. G., OWEN, M. J., O'DONOVAN, M. C., NORTON, N., HARE, E., RAVENTOS, H., NICOLINI, H., ALBUS, M., MAIER, W., NIMGAONKAR, V. L., TERENIUS, L., MALLET, J.,

- JAY, M., GODARD, S., NERTNEY, D., ALEXANDER, M., CROWE, R. R., SILVERMAN, J. M., BASSETT, A. S., ROY, M. A., MERETTE, C., PATO, C. N., PATO, M. T., ROOS, J. L., KOHN, Y., AMANN-ZALCENSTEIN, D., KALSI, G., MCQUILLIN, A., CURTIS, D., BRYNJOLFSON, J., SIGMUNDSSON, T., PETURSSON, H., SANDERS, A. R., DUAN, J., JAZIN, E., MYLES-WORSLEY, M., KARAYIORGOU, M. & LEWIS, C. M. 2009. Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 14, 774-85.
- NICODEMUS, K. K., KOLACHANA, B. S., VAKKALANKA, R., STRAUB, R. E., GIEGLING, I., EGAN, M. F., RUJESCU, D. & WEINBERGER, D. R. 2007. Evidence for statistical epistasis between catechol-O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia. *Hum Genet*, 120, 889-906.
- NICODEMUS, K. K., MARENCO, S., BATTEN, A. J., VAKKALANKA, R., EGAN, M. F., STRAUB, R. E. & WEINBERGER, D. R. 2008. Serious obstetric complications interact with hypoxia-regulated/vascular-expression genes to influence schizophrenia risk. *Mol Psychiatry*, 13, 873-7.
- NORTON, N., WILLIAMS, H. J., DWYER, S., CARROLL, L., PEIRCE, T., MOSKVINA, V., SEGURADO, R., NIKOLOV, I., WILLIAMS, N. M., IKEDA, M., IWATA, N., OWEN, M. J. & O'DONOVAN, M. C. 2007. Association analysis of AKT1 and schizophrenia in a UK case control sample. *Schizophr Res*, 93, 58-65.
- O'CALLAGHAN, E., GIBSON, T., COLOHAN, H. A., BUCKLEY, P., WALSHE, D. G., LARKIN, C. & WADDINGTON, J. L. 1992. Risk of schizophrenia in adults born after obstetric complications and their association with early onset of illness: a controlled study. *BMJ*, 305, 1256-9.
- O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 1999. Candidate-gene association studies of schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 65, 587-92.
- OETH, P. B., M.; PARK, C.; KOSMAN, D.; DEL MISTRO, G.; VAN DEN BOOM, D.; JURINKE, C.; 2005. iPLEX™ assay: increased plexing efficiency and flexibility for MassARRAY system through single base primer extension with mass-modified terminators. Sequenom application note, *Sequenom*, San Diego
- OHTSUKI, T., INADA, T. & ARINAMI, T. 2004. Failure to confirm association between AKT1 haplotype and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Mol Psychiatry*, 9, 981-3.
- OLNEY, J. W. & FARBER, N. B. 1995. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 52, 998-1007.
- OLNEY, J. W., LABRUYERE, J., WANG, G., WOZNIAK, D. F., PRICE, M. T. & SESMA, M. A. 1991. NMDA antagonist neurotoxicity: mechanism and prevention. *Science*, 254, 1515-8.
- O'TUATHAIGH, C. M., BABOVIC, D., O'MEARA, G., CLIFFORD, J. J., CROKE, D. T. & WADDINGTON, J. L. 2007. Susceptibility genes for schizophrenia: characterisation

- of mutant mouse models at the level of phenotypic behaviour. *Neurosci Biobehav Rev*, 31, 60-78.
- OWEN, M. J. 2000. Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*, 31, 179-86.
- OWEN, M. J., CRADDOCK, N. & O'DONOVAN, M. C. 2005. Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet*, 21, 518-25.
- PANGULURI, R. C., LONG, L. O., CHEN, W., WANG, S., COULIBALY, A., UKOLI, F., JACKSON, A., WEINRICH, S., AHAGHOTU, C., ISAACS, W. & KITTLES, R. A. 2004. COX-2 gene promoter haplotypes and prostate cancer risk. *Carcinogenesis*, 25, 961-6.
- PANTELIS, C., YUCEL, M., WOOD, S. J., VELAKOULIS, D., SUN, D., BERGER, G., STUART, G. W., YUNG, A., PHILLIPS, L. & MCGORRY, P. D. 2005. Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 31, 672-96.
- PEARCE, L. R., KOMANDER, D. & ALESSI, D. R. 2010. The nuts and bolts of AGC protein kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 11, 9-22.
- PEDERSEN, C. B. & MORTENSEN, P. B. 2001. Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Arch Gen Psychiatry*, 58, 1039-46.
- PENG, L., ZHANG, X., CUI, X., ZHU, D., WU, J., SUN, D., YUE, Q., LI, Z., LIU, H., LI, G., ZHANG, J., XU, H., LIU, F., QIN, C., LI, M. & SUN, J. 2014. Paliperidone protects SK-N-SH cells against glutamate toxicity via Akt1/GSK3beta signaling pathway. *Schizophr Res*, 157, 120-7.
- PENNER, J. D. & BROWN, A. S. 2007. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert Rev Neurother*, 7, 797-805.
- PERALTA, V. & CUESTA, M. J. 1994. Psychometric properties of the positive and negative syndrome scale (PANSS) in schizophrenia. *Psychiatry Res*, 53, 31-40.
- PHILLIPS, E. M., ODUNLAMI, A. O. & BONHAM, V. L. 2007. Mixed Race: Understanding Difference in the Genome Era. *Soc Forces*, 86, 795-820.
- PGC SCHIZOPHRENIA WORKING GROUP OF THE PSYCHIATRIC GENOMICS, C. 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511, 421-427.
- PIETILAINEN, O. P., PAUNIO, T., LOUKOLA, A., TUULIO-HENRIKSSON, A., KIESEPPA, T., THOMPSON, P., TOGA, A. W., VAN ERP, T. G., SILVENTOINEN, K., SORONEN, P., HENNAH, W., TURUNEN, J. A., WEDENOJA, J., PALO, O. M., SILANDER, K., LONNQVIST, J., KAPRIO, J., CANNON, T. D. & PELTONEN, L. 2009. Association of AKT1 with verbal learning, verbal memory, and regional cortical gray matter density in twins. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 150B, 683-92.

- POCKLINGTON, A. J., REES, E., WALTERS, J. T., HAN, J., KAVANAGH, D. H., CHAMBERT, K. D., HOLMANS, P., MORAN, J. L., MCCARROLL, S. A., KIROV, G., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2015. Novel Findings from CNVs Implicate Inhibitory and Excitatory Signaling Complexes in Schizophrenia. *Neuron*, 86, 1203-14.
- POLTER, A., BEUREL, E., YANG, S., GARNER, R., SONG, L., MILLER, C. A., SWEATT, J. D., MCMAHON, L., BARTOLUCCI, A. A., LI, X. & JOPE, R. S. 2010. Deficiency in the inhibitory serine-phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 increases sensitivity to mood disturbances. *Neuropsychopharmacology*, 35, 1761-74.
- PRETI, A., CARDASCIA, L., ZEN, T., MARCHETTI, M., FAVARETTO, G. & MIOTTO, P. 2000. Risk for obstetric complications and schizophrenia. *Psychiatry Res*, 96, 127-39.
- QIAGEN 2005. QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook 2nd Edition. In: QIAGEN (ed.) 2 ed. Hilden, Deutschland.
- QIN, Y., ZHU, Y., BAUMGART, J. P., STORNETTA, R. L., SEIDENMAN, K., MACK, V., VAN AELST, L. & ZHU, J. J. 2005. State-dependent Ras signaling and AMPA receptor trafficking. *Genes Dev*, 19, 2000-15.
- RAMIREZ BASCO, M., BOSTIC, J. Q., DAVIES, D., RUSH, A. J., WITTE, B., HENDRICKSE, W. & BARNETT, V. 2000. Methods to improve diagnostic accuracy in a community mental health setting. *Am J Psychiatry*, 157, 1599-605.
- RAPOPORT, J. L., ADDINGTON, A. M., FRANGOU, S. & PSYCH, M. R. 2005. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*, 10, 434-49.
- REES, E., WALTERS, J. T., GEORGIEVA, L., ISLES, A. R., CHAMBERT, K. D., RICHARDS, A. L., MAHONEY-DAVIES, G., LEGGE, S. E., MORAN, J. L., MCCARROLL, S. A., O'DONOVAN, M. C., OWEN, M. J. & KIROV, G. 2014. Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *Br J Psychiatry*, 204, 108-14.
- REHN, A. E., VAN DEN BUUSE, M., COPOLOV, D., BRISCOE, T., LAMBERT, G. & REES, S. 2004. An animal model of chronic placental insufficiency: relevance to neurodevelopmental disorders including schizophrenia. *Neuroscience*, 129, 381-91.
- REINECKER, H. 2003. *Lehrbuch der klinischen Psychologie und Psychotherapie, Modelle psychischer Störungen*, Göttingen.
- REYNOLDS, G. P., ABDUL-MONIM, Z., NEILL, J. C. & ZHANG, Z. J. 2004. Calcium binding protein markers of GABA deficits in schizophrenia--postmortem studies and animal models. *Neurotox Res*, 6, 57-61.
- RICE, J. P., REICH, T., BUCHOLZ, K. K., NEUMAN, R. J., FISHMAN, R., ROCHBERG, N., HESSELBROCK, V. M., NURNBERGER, J. I., JR., SCHUCKIT, M. A. & BEGLEITER, H. 1995. Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, 19, 1018-23.

- RICHTER, V. U. GUTHKE, J. 1996. Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (*LEBI*), Hogrefe, Göttingen.
- RINNE, H. 2003. Taschenbuch der Statistik. *Harri Deutsch*, Frankfurt
- RIPKE, S., O'DUSHLAINE, C., CHAMBERT, K., MORAN, J. L., KAHLER, A. K., AKTERIN, S., BERGEN, S. E., COLLINS, A. L., CROWLEY, J. J., FROMER, M., KIM, Y., LEE, S. H., MAGNUSSON, P. K., SANCHEZ, N., STAHL, E. A., WILLIAMS, S., WRAY, N. R., XIA, K., BETTELLA, F., BORGLUM, A. D., BULIK-SULLIVAN, B. K., CORMICAN, P., CRADDOCK, N., DE LEEUW, C., DURMISHI, N., GILL, M., GOLIMBET, V., HAMSHERE, M. L., HOLMANS, P., HOUGAARD, D. M., KENDLER, K. S., LIN, K., MORRIS, D. W., MORS, O., MORTENSEN, P. B., NEALE, B. M., O'NEILL, F. A., OWEN, M. J., MILOVANCEVIC, M. P., POSTHUMA, D., POWELL, J., RICHARDS, A. L., RILEY, B. P., RUDERFER, D., RUJESCU, D., SIGURDSSON, E., SILAGADZE, T., SMIT, A. B., STEFANSSON, H., STEINBERG, S., SUVISAARI, J., TOSATO, S., VERHAGE, M., WALTERS, J. T., LEVINSON, D. F., GEJMAN, P. V., LAURENT, C., MOWRY, B. J., O'DONOVAN, M. C., PULVER, A. E., SCHWAB, S. G., WILDENAUER, D. B., DUDBRIDGE, F., SHI, J., ALBUS, M., ALEXANDER, M., CAMPION, D., COHEN, D., DIKEOS, D., DUAN, J., EICHHAMMER, P., GODARD, S., HANSEN, M., LERER, F. B., LIANG, K. Y., MAIER, W., MALLET, J., NERTNEY, D. A., NESTADT, G., NORTON, N., PAPADIMITRIOU, G. N., RIBBLE, R., SANDERS, A. R., SILVERMAN, J. M., WALSH, D., WILLIAMS, N. M., WORMLEY, B., ARRANZ, M. J., BAKKER, S., BENDER, S., BRAMON, E., COLLIER, D., CRESPO-FACORRO, B., HALL, J., IYEGBE, C., JABLENSKY, A., KAHN, R. S., KALAYDJIEVA, L., LAWRIE, S., LEWIS, C. M., et al. 2013. Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet*, 45, 1150-9.
- ROBBINS, T. W. 2000. Chemical neuromodulation of frontal-executive functions in humans and other animals. *Exp Brain Res*, 133, 130-8.
- RÖNZ, B. STROHE., H.G.; 1994. Lexikon Statistik, *Gabler*, Wiesbaden.
- ROSS, C. A., MARGOLIS, R. L., READING, S. A., PLETNIKOV, M. & COYLE, J. T. 2006. Neurobiology of schizophrenia. *Neuron*, 52, 139-53.
- ROSSLER, W., SALIZE, H. J., VAN OS, J. & RIECHER-ROSSLER, A. 2005. Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*, 15, 399-409.
- ROT, A. 1992. Endothelial cell binding of NAP-1/IL-8: role in neutrophil emigration. *Immunol Today*, 13, 291-4.
- RUJESCU, D., INGASON, A., CICHON, S., PIETILAINEN, O. P., BARNES, M. R., TOULOPOULOU, T., PICCHIONI, M., VASSOS, E., ETTINGER, U., BRAMON, E., MURRAY, R., RUGGERI, M., TOSATO, S., BONETTO, C., STEINBERG, S., SIGURDSSON, E., SIGMUNDSSON, T., PETURSSON, H., GYLFASSON, A., OLASON, P. I., HARDARSSON, G., JONSDOTTIR, G. A., GUSTAFSSON, O., FOSSDAL, R., GIEGLING, I., MOLLER, H. J., HARTMANN, A. M., HOFFMANN, P., CROMBIE, C., FRASER, G., WALKER, N., LONNQVIST, J., SUVISAARI, J.,

- TUULIO-HENRIKSSON, A., DJUROVIC, S., MELLE, I., ANDREASSEN, O. A., HANSEN, T., WERGE, T., KIEMENEY, L. A., FRANKE, B., VELTMAN, J., BUIZER-VOSKAMP, J. E., INVESTIGATORS, G., SABATTI, C., OPHOFF, R. A., RIETSCHER, M., NOTH, M. M., STEFANSSON, K., PELTONEN, L., ST CLAIR, D., STEFANSSON, H. & COLLIER, D. A. 2009. Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 18, 988-96.
- SACHS, L. 2004. Angewandte Statistik, Anwendung statistischer Methoden, *Springer*, Berlin, Heidelberg, New York.
- SALLES, M. J., HERVE, D., RIVET, J. M., LONGUEVILLE, S., MILLAN, M. J., GIRAULT, J. A. & MANNOURY LA COUR, C. 2013. Transient and rapid activation of Akt/GSK-3 β and mTORC1 signaling by D3 dopamine receptor stimulation in dorsal striatum and nucleus accumbens. *J Neurochem*, 125, 532-44.
- SANDERS, A. R., DUAN, J., LEVINSON, D. F., SHI, J., HE, D., HOU, C., BURRELL, G. J., RICE, J. P., NERTNEY, D. A., OLINCY, A., ROZIC, P., VINOGRADOV, S., BUCCOLA, N. G., MOWRY, B. J., FREEDMAN, R., AMIN, F., BLACK, D. W., SILVERMAN, J. M., BYERLEY, W. F., CROWE, R. R., CLONINGER, C. R., MARTINEZ, M. & GEJMAN, P. V. 2008. No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *Am J Psychiatry*, 165, 497-506.
- SARACENO, B., LEVAV, I. & KOHN, R. 2005. The public mental health significance of research on socio-economic factors in schizophrenia and major depression. *World Psychiatry*, 4, 181-5.
- SASS, H., WITTCHEN, H.-U., ZAUDIG, M. & HOUBEN, I. 2003. *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen. DSM-IV-TR: Textrevision*, Göttingen.
- SAUDEMONT, A. & COLUCCI, F. 2009. PI3K signaling in lymphocyte migration. *Cell Cycle*, 8, 3307-10.
- SAWA, A. & SNYDER, S. H. 2002. Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science*, 296, 692-5.
- SAXE, M. D., BATTAGLIA, F., WANG, J. W., MALLERET, G., DAVID, D. J., MONCKTON, J. E., GARCIA, A. D., SOFRONIEW, M. V., KANDEL, E. R., SANTARELLI, L., HEN, R. & DREW, M. R. 2006. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 17501-6.
- SCHARFETTER, C. 1995. Schizophrene Menschen, *Psychologie Verlags Union*, Weinheim
- SCHEID, M. P. & WOODGETT, J. R. 2001. PKB/AKT: functional insights from genetic models. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2, 760-8.
- SCHMIDT, U. 2003a. Anatomie, Biochemie und Physiologie der Zelle, *Deutscher Ärzteverlag*, Köln.

- SCHMIDT, U. 2003b. Medizinische Psychologie und Medizinische Soziologie, *Deutscher Ärzteverlag*, Köln.
- SCHMIDT-KASTNER, R., VAN OS, J., H, W. M. S. & SCHMITZ, C. 2006. Gene regulation by hypoxia and the neurodevelopmental origin of schizophrenia. *Schizophr Res*, 84, 253-71.
- SCHORK, N. J., FALLIN, D., THIEL, B., XU, X., BROECKEL, U., JACOB, H. J. & COHEN, D. 2001. The future of genetic case-control studies. *Adv Genet*, 42, 191-212.
- SCHWAB, S. G., HOEFGEN, B., HANSES, C., HASSENBACH, M. B., ALBUS, M., LERER, B., TRIXLER, M., MAIER, W. & WILDENAUER, D. B. 2005. Further evidence for association of variants in the AKT1 gene with schizophrenia in a sample of European sib-pair families. *Biol Psychiatry*, 58, 446-50.
- SCHWAB, S. G., PLUMMER, C., ALBUS, M., BORRMANN-HASSENBACH, M., LERER, B., TRIXLER, M., MAIER, W. & WILDENAUER, D. B. 2008. DNA sequence variants in the metabotropic glutamate receptor 3 and risk to schizophrenia: an association study. *Psychiatr Genet*, 18, 25-30.
- SEBASTIANI, P., TIMOFEEV, N., DWORKIS, D. A., PERLS, T. T. & STEINBERG, M. H. 2009. Genome-wide association studies and the genetic dissection of complex traits. *Am J Hematol*, 84, 504-15.
- SEGAL, D. L., HERSEN, M. & VAN HASSELT, V. B. 1994. Reliability of the Structured Clinical Interview for DSM-III-R: an evaluative review. *Compr Psychiatry*, 35, 316-27.
- SEI, Y., LI, Z., SONG, J., REN-PATTERSON, R., TUNBRIDGE, E. M., IIZUKA, Y., INOUE, M., ALFONSO, B. T., BELTAIFA, S., NAKAI, Y., KOLACHANA, B. S., CHEN, J. & WEINBERGER, D. R. 2010. Epistatic and functional interactions of catechol-o-methyltransferase (COMT) and AKT1 on neuregulin1-ErbB signaling in cell models. *PLoS One*, 5, e10789.
- SEMPLE, D. M., MCINTOSH, A. M. & LAWRIE, S. M. 2005. Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol*, 19, 187-94.
- SENGBUSCH, P. V. 2004. *Hardy-Weinberg-Gleichgewicht* [Online]. Available: www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/d13/13a.htm [Accessed 08.07.2013].
- SERRETTI, A. & MANDELLI, L. 2008. The genetics of bipolar disorder: genome 'hot regions,' genes, new potential candidates and future directions. *Mol Psychiatry*, 13, 742-71.
- SHAO, L. & VAWTER, M. P. 2008. Shared gene expression alterations in schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, 64, 89-97.
- SHENTON, M. E., DICKEY, C. C., FRUMIN, M. & MCCARLEY, R. W. 2001. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res*, 49, 1-52.

- SHI, J., GERSHON, E. S. & LIU, C. 2008. Genetic associations with schizophrenia: meta-analyses of 12 candidate genes. *Schizophr Res*, 104, 96-107.
- SHI, J., LEVINSON, D. F., DUAN, J., SANDERS, A. R., ZHENG, Y., PE'ER, I., DUDBRIDGE, F., HOLMANS, P. A., WHITEMORE, A. S., MOWRY, B. J., OLINCY, A., AMIN, F., CLONINGER, C. R., SILVERMAN, J. M., BUCCOLA, N. G., BYERLEY, W. F., BLACK, D. W., CROWE, R. R., OKSENBERG, J. R., MIREL, D. B., KENDLER, K. S., FREEDMAN, R. & GEJMAN, P. V. 2009. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature*, 460, 753-7.
- SHIOJIMA, I. & WALSH, K. 2002. Role of Akt signaling in vascular homeostasis and angiogenesis. *Circ Res*, 90, 1243-50.
- SKRE, I., ONSTAD, S., TORGERSEN, S. & KRINGLEN, E. 1991. High interrater reliability for the Structured Clinical Interview for DSM-III-R Axis I (SCID-I). *Acta Psychiatr Scand*, 84, 167-73.
- SOMANATH, P. R., RAZORENOVA, O. V., CHEN, J. & BYZOVA, T. V. 2006. Akt1 in endothelial cell and angiogenesis. *Cell Cycle*, 5, 512-8.
- STAAL, S. P., HUEBNER, K., CROCE, C. M., PARSA, N. Z. & TESTA, J. R. 1988. The AKT1 proto-oncogene maps to human chromosome 14, band q32. *Genomics*, 2, 96-8.
- STARK, G. R. & TAYLOR, W. R. 2004. Analyzing the G2/M checkpoint. *Methods Mol Biol*, 280, 51-82.
- STEFANSSON, H., OPHOFF, R. A., STEINBERG, S., ANDREASSEN, O. A., CICHON, S., RUJESCU, D., WERGE, T., PIETILAINEN, O. P., MORS, O., MORTENSEN, P. B., SIGURDSSON, E., GUSTAFSSON, O., NYEGAARD, M., TUULIO-HENRIKSSON, A., INGASON, A., HANSEN, T., SUVISAARI, J., LONNQVIST, J., PAUNIO, T., BORGLUM, A. D., HARTMANN, A., FINK-JENSEN, A., NORDENTOFT, M., HOUGAARD, D., NORGAARD-PEDERSEN, B., BOTTCHER, Y., OLESEN, J., BREUER, R., MOLLER, H. J., GIEGLING, I., RASMUSSEN, H. B., TIMM, S., MATTHEISEN, M., BITTER, I., RETHELYI, J. M., MAGNUSDOTTIR, B. B., SIGMUNDSSON, T., OLASON, P., MASSON, G., GULCHER, J. R., HARALDSSON, M., FOSSDAL, R., THORGEIRSSON, T. E., THORSTEINSDOTTIR, U., RUGGERI, M., TOSATO, S., FRANKE, B., STRENGMAN, E., KIEMENEY, L. A., GENETIC, R., OUTCOME IN, P., MELLE, I., DJUROVIC, S., ABRAMOVA, L., KALEDA, V., SANJUAN, J., DE FRUTOS, R., BRAMON, E., VASSOS, E., FRASER, G., ETTINGER, U., PICCHIONI, M., WALKER, N., TOULOPOULOU, T., NEED, A. C., GE, D., YOON, J. L., SHIANN, K. V., FREIMER, N. B., CANTOR, R. M., MURRAY, R., KONG, A., GOLIMBET, V., CARRACEDO, A., ARANGO, C., COSTAS, J., JONSSON, E. G., TERENIUS, L., AGARTZ, I., PETURSSON, H., NOTHEN, M. M., RIETSCHEL, M., MATTHEWS, P. M., MUGLIA, P., PELTONEN, L., ST CLAIR, D., GOLDSTEIN, D. B., STEFANSSON, K. & COLLIER, D. A. 2009. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*, 460, 744-7.
- STEFANIS, N. C., HATZIMANOLIS, A., AVRAMOPOULOS, D., SMYRNIS, N., EVDOKIMIDIS, I., STEFANIS, C. N., WEINBERGER, D. R. & STRAUB, R. E.

2013. Variation in psychosis gene ZNF804A is associated with a refined schizotypy phenotype but not neurocognitive performance in a large young male population. *Schizophr Bull*, 39, 1252-60.
- STEINERT, T. & KALLERT, T. W. 2006. Medikamentöse Zwangsbehandlung in der Psychiatrie, *Psychiatr Prax*, 33, 160-169.
- STONE, J. M., MORRISON, P. D. & PILOWSKY, L. S. 2007. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol*, 21, 440-52.
- STOTZ-INGENLATH, G. 2000. Epistemological aspects of Eugen Bleuler's conception of schizophrenia in 1911. *Med Health Care Philos*, 3, 153-9.
- STRACHNAN, T. & READ, A. P. 1999. Human molecular genetics, *Wiley-Liss*, New York.
- STRAUB, R. E. & WEINBERGER, D. R. 2006. Schizophrenia genes - famine to feast. *Biol Psychiatry*, 60, 81-3.
- SULLIVAN, P. F., KENDLER, K. S. & NEALE, M. C. 2003. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*, 60, 1187-92.
- SUN, H., LESCHE, R., LI, D. M., LILIENTAL, J., ZHANG, H., GAO, J., GAVRILOVA, N., MUELLER, B., LIU, X. & WU, H. 1999. PTEN modulates cell cycle progression and cell survival by regulating phosphatidylinositol 3,4,5,-trisphosphate and Akt/protein kinase B signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 6199-204.
- SUZUKI, T., IWATA, N., KITAMURA, Y., KITAJIMA, T., YAMANOUCHI, Y., IKEDA, M., NISHIYAMA, T., KAMATANI, N. & OZAKI, N. 2003. Association of a haplotype in the serotonin 5-HT₄ receptor gene (HTR4) with Japanese schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 121B, 7-13.
- TALKOWSKI, M. E., KIROV, G., BAMNE, M., GEORGIEVA, L., TORRES, G., MANSOUR, H., CHOWDARI, K. V., MILANOVA, V., WOOD, J., MCCLAIN, L., PRASAD, K., SHIRTS, B., ZHANG, J., O'DONOVAN, M. C., OWEN, M. J., DEVLIN, B. & NIMGAONKAR, V. L. 2008. A network of dopaminergic gene variations implicated as risk factors for schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 17, 747-58.
- TAN, H. Y., NICODEMUS, K. K., CHEN, Q., LI, Z., BROOKE, J. K., HONEA, R., KOLACHANA, B. S., STRAUB, R. E., MEYER-LINDENBERG, A., SEI, Y., MATTAY, V. S., CALLICOTT, J. H. & WEINBERGER, D. R. 2008. Genetic variation in AKT1 is linked to dopamine-associated prefrontal cortical structure and function in humans. *J Clin Invest*, 118, 2200-8.
- TAN, J., LIN, Y., SU, L., YAN, Y., CHEN, Q., JIANG, H., WEI, Q. & GU, L. 2014. Association between DAOA gene polymorphisms and the risk of schizophrenia, bipolar disorder and depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 51, 89-98.

- TAN, W., WANG, Y., GOLD, B., CHEN, J., DEAN, M., HARRISON, P. J., WEINBERGER, D. R. & LAW, A. J. 2007. Molecular cloning of a brain-specific, developmentally regulated neuregulin 1 (NRG1) isoform and identification of a functional promoter variant associated with schizophrenia. *J Biol Chem*, 282, 24343-51.
- TANDON, R., KESHAVAN, M. S. & NASRALLAH, H. A. 2008a. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res*, 102, 1-18.
- TANDON, R., KESHAVAN, M. S. & NASRALLAH, H. A. 2008b. Schizophrenia, "Just the Facts": what we know in 2008 part 1: overview. *Schizophr Res*, 100, 4-19.
- TANDON, R., NASRALLAH, H. A. & KESHAVAN, M. S. 2009. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res*, 110, 1-23.
- TANSEY, K. E., REES, E., LINDEN, D. E., RIPKE, S., CHAMBERT, K. D., MORAN, J. L., MCCARROLL, S. A., HOLMANS, P., KIROV, G., WALTERS, J., OWEN, M. J. & O'DONOVAN, M. C. 2015. Common alleles contribute to schizophrenia in CNV carriers. *Mol Psychiatry*.
- TEJKALOVA, H., KAISER, M., KLASCHKA, J. & STASTNY, F. 2007. Does neonatal brain ischemia induce schizophrenia-like behavior in young adult rats? *Physiol Res*, 56, 815-23.
- TERRY, A. V., JR., BUCCAFUSCO, J. J. & WILSON, C. 2008. Cognitive dysfunction in neuropsychiatric disorders: selected serotonin receptor subtypes as therapeutic targets. *Behav Brain Res*, 195, 30-8.
- THAKER, G. K. 2007. Schizophrenia endophenotypes as treatment targets. *Expert Opin Ther Targets*, 11, 1189-206.
- THISELTON, D. L., VLADIMIROV, V. I., KUO, P. H., MCCLAY, J., WORMLEY, B., FANOUS, A., O'NEILL, F. A., WALSH, D., VAN DEN OORD, E. J., KENDLER, K. S. & RILEY, B. P. 2008. AKT1 is associated with schizophrenia across multiple symptom dimensions in the Irish study of high density schizophrenia families. *Biol Psychiatry*, 63, 449-57.
- TIAN, N., KANNO, T., JIN, Y. & NISHIZAKI, T. 2014. Lithium potentiates GSK-3 β activity by inhibiting phosphoinositide 3-kinase-mediated Akt phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 450, 746-9.
- TOLIAS, K. F., BIKOFF, J. B., BURETTE, A., PARADIS, S., HARRAR, D., TAVAZOIE, S., WEINBERG, R. J. & GREENBERG, M. E. 2005. The Rac1-GEF Tiam1 couples the NMDA receptor to the activity-dependent development of dendritic arbors and spines. *Neuron*, 45, 525-38.
- TÖLLE, R. & LEMPP, R. 1999. Psychiatrie, *Springer*, Berlin, Heidelberg, New York.

- TOYOTA, T., YAMADA, K., DETERA-WADLEIGH, S. D. & YOSHIKAWA, T. 2003. Analysis of a cluster of polymorphisms in AKT1 gene in bipolar pedigrees: a family-based association study. *Neurosci Lett*, 339, 5-8.
- TREPEL, M. 1999. Neuroanatomie Struktur und Funktion, *Urban & Fischer*, München Stuttgart Jena Lübeck Ulm.
- TSUANG, M. T., BAR, J. L., STONE, W. S. & FARAONE, S. V. 2004. Gene-environment interactions in mental disorders. *World Psychiatry*, 3, 73-83.
- TSUANG, M. T. & FARAONE, S. V. 1995. Genetic heterogeneity of schizophrenia. *Seishin Shinkeigaku Zasshi*, 97, 485-501.
- TSUANG, M. T., STONE, W. S. & FARAONE, S. V. 2000. Towards the prevention of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 48, 349-56.
- TUOMINEN, H. J., TIIHONEN, J. & WAHLBECK, K. 2005. Glutamatergic drugs for schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res*, 72, 225-34.
- TURETSKY, B. I., CALKINS, M. E., LIGHT, G. A., OLINCY, A., RADANT, A. D. & SWERDLOW, N. R. 2007. Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. *Schizophr Bull*, 33, 69-94.
- U.S.-NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. 2013. *akt1* [Online]. Available: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/AKT1> [Accessed 15.07.2014 10.05].
- UGI, S., IMAMURA, T., MAEGAWA, H., EGAWA, K., YOSHIKAWA, T., SHI, K., OBATA, T., EBINA, Y., KASHIWAGI, A. & OLEFSKY, J. M. 2004. Protein phosphatase 2A negatively regulates insulin's metabolic signaling pathway by inhibiting Akt (protein kinase B) activity in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol*, 24, 8778-89.
- UNIVERSITÄT-HEIDELBERG.
Massenspektrometer, proteomic core facility [Online]. Available: www.umm.uni-heidelberg.de/inst/ikc/proteomics/images/bildmsbauelemente.jpg [Accessed 05.07.2013 9.36].
- VADLAKONDA, L., DASH, A., PASUPULETI, M., ANIL KUMAR, K. & REDDANNA, P. 2013a. The Paradox of Akt-mTOR Interactions. *Front Oncol*, 3, 165.
- VADLAKONDA, L., PASUPULETI, M. & PALLU, R. 2013b. Role of PI3K-AKT-mTOR and Wnt Signaling Pathways in Transition of G1-S Phase of Cell Cycle in Cancer Cells. *Front Oncol*, 3, 85.
- VAN OS, J. & MARCELIS, M. 1998. The ecogenetics of schizophrenia: a review. *Schizophr Res*, 32, 127-35.
- VAN OS, J., MARCELIS, M., SHAM, P., JONES, P., GILVARRY, K. & MURRAY, R. 1997. Psychopathological syndromes and familial morbid risk of psychosis. *Br J Psychiatry*, 170, 241-6.

- VARGAS, G., STRASSNIG, M., SABBAG, S., GOULD, F., DURAND, D., STONE, L., PATTERSON, T. L. & HARVEY, P. D. 2014. The course of vocational functioning in patients with schizophrenia: Re-examining social drift. *Schizophr Res Cogn*, 1, e41-e46.
- VIVANCO, I., CHEN, Z. C., TANOS, B., OLDRINI, B., HSIEH, W. Y., YANNUZZI, N., CAMPOS, C. & MELLINGHOFF, I. K. 2014. A kinase-independent function of AKT promotes cancer cell survival. *Elife*, 3.
- WACHOLDER, S., CHANOCK, S., GARCIA-CLOSAS, M., EL GHORMLI, L. & ROTHMAN, N. 2004. Assessing the probability that a positive report is false: an approach for molecular epidemiology studies. *J Natl Cancer Inst*, 96, 434-42.
- WALSH, T., MCCLELLAN, J. M., MCCARTHY, S. E., ADDINGTON, A. M., PIERCE, S. B., COOPER, G. M., NORD, A. S., KUSENDA, M., MALHOTRA, D., BHANDARI, A., STRAY, S. M., RIPPEY, C. F., ROCCANOVA, P., MAKAROV, V., LAKSHMI, B., FINDLING, R. L., SIKICH, L., STROMBERG, T., MERRIMAN, B., GOGTAY, N., BUTLER, P., ECKSTRAND, K., NOORY, L., GOCHMAN, P., LONG, R., CHEN, Z., DAVIS, S., BAKER, C., EICHLER, E. E., MELTZER, P. S., NELSON, S. F., SINGLETON, A. B., LEE, M. K., RAPOPORT, J. L., KING, M. C. & SEBAT, J. 2008. Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science*, 320, 539-43.
- WALTERS, J. T., CORVIN, A., OWEN, M. J., WILLIAMS, H., DRAGOVIC, M., QUINN, E. M., JUDGE, R., SMITH, D. J., NORTON, N., GIEGLING, I., HARTMANN, A. M., MOLLER, H. J., MUGLIA, P., MOSKVINA, V., DWYER, S., O'DONOGHUE, T., MORAR, B., COOPER, M., CHANDLER, D., JABLENSKY, A., GILL, M., KALADJIEVA, L., MORRIS, D. W., O'DONOVAN, M. C., RUJESCU, D. & DONOHOE, G. 2010. Psychosis susceptibility gene ZNF804A and cognitive performance in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 67, 692-700.
- WANG, Q., LIU, L., PEI, L., JU, W., AHMADIAN, G., LU, J., WANG, Y., LIU, F. & WANG, Y. T. 2003. Control of synaptic strength, a novel function of Akt. *Neuron*, 38, 915-28.
- WANG, Z. W., BLACK, D., ANDREASEN, N. C. & CROWE, R. R. 1993. A linkage study of chromosome 11q in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 50, 212-6.
- WARD, K. E., FRIEDMAN, L., WISE, A. & SCHULZ, S. C. 1996. Meta-analysis of brain and cranial size in schizophrenia. *Schizophr Res*, 22, 197-213.
- WASSEF, A., BAKER, J. & KOCHAN, L. D. 2003. GABA and schizophrenia: a review of basic science and clinical studies. *J Clin Psychopharmacol*, 23, 601-40.
- WEINBERGER, D. R. 1999. Cell biology of the hippocampal formation in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 45, 395-402.
- WHO ICD-10. 1991. Tenth Revision of the International Classification of Diseases. Chapter V (F): Mental and behavioural disorders (including disorders of psychological development). Clinical descriptions and diagnostic guidelines [Online]. Geneva, World Health Organisation

- [Online]. Available: <http://www.who.int/classifications/icd/en/GRNBOOK.pdf>
[Accessed 14.07.2014 11.14.]
- WHO,. 2013. Schizophrenia, [Online]. Available:
http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/ [Online]. [Accessed 10.06.2013.]
- WILLIAMS, N. M., O'DONOVAN, M. C. & OWEN, M. J. 2006. Chromosome 22 deletion syndrome and schizophrenia. *Int Rev Neurobiol*, 73, 1-27.
- WITTCHEN, H. U. & HOYER, J. (eds.) 2011. *Klinische Psychologie und Psychotherapie* Berlin, Heidelberg, New York.
- WITTCHEN, H. U., SAß, H. & ZAUDIG, M. 1996. *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychiatrischer Störungen DSM-IV*, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle
- WITTCHEN, H. U. WUNDERLICH, U.; GRUSCHWITZ, S.; ZAUDIG, M.; 1997. *SKID-I. Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV. Achse I: Psychische Störungen.* , Göttingen.
- WOHL, M. & GORWOOD, P. 2007. Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. *Eur Psychiatry*, 22, 22-6.
- WRIGHT, I. C., RABE-HESKETH, S., WOODRUFF, P. W., DAVID, A. S., MURRAY, R. M. & BULLMORE, E. T. 2000. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 157, 16-25.
- XU, M. Q., XING, Q. H., ZHENG, Y. L., LI, S., GAO, J. J., HE, G., GUO, T. W., FENG, G. Y., XU, F. & HE, L. 2007. Association of AKT1 gene polymorphisms with risk of schizophrenia and with response to antipsychotics in the Chinese population. *J Clin Psychiatry*, 68, 1358-67.
- ZAKZANIS, K. K. & HANSEN, K. T. 1998. Dopamine D2 densities and the schizophrenic brain. *Schizophr Res*, 32, 201-6.
- ZHOU, B. P., LIAO, Y., XIA, W., SPOHN, B., LEE, M. H. & HUNG, M. C. 2001. Cytoplasmic localization of p21Cip1/WAF1 by Akt-induced phosphorylation in HER-2/neu-overexpressing cells. *Nat Cell Biol*, 3, 245-52.
- ZHOU, B. P., LIAO, Y., XIA, W., ZOU, Y., SPOHN, B. & HUNG, M. C. 2001. HER-2/neu induces p53 ubiquitination via Akt-mediated MDM2 phosphorylation. *Nat Cell Biol*, 3, 973-82.
- ZHU, C., XU, F., WANG, X., SHIBATA, M., UCHIYAMA, Y., BLOMGREN, K. & HAGBERG, H. 2006. Different apoptotic mechanisms are activated in male and female brains after neonatal hypoxia-ischaemia. *J Neurochem*, 96, 1016-27.
- ZIPURSKY, R. B., LAMBE, E. K., KAPUR, S. & MIKULIS, D. J. 1998. Cerebral gray matter volume deficits in first episode psychosis. *Arch Gen Psychiatry*, 55, 540-6.

Literaturverzeichnis

- ZOBEL, A. MAIER, W.; 2004. Endophänotypen - ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Nervenarzt*, 75, 205-214.
- ZORNBERG, G. L., BUKA, S. L. & TSUANG, M. T. 2000. Hypoxic-ischemia-related fetal/neonatal complications and risk of schizophrenia and other nonaffective psychoses: a 19-year longitudinal study. *Am J Psychiatry*, 157, 196-202.

Danksagung

DANKSAGUNG

Den Herren Prof. Dr. med. Möller und Prof. Dr. med. Peter Falkai danke ich dafür, diese Dissertation an der von ihnen geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität durchzuführen zu können.

Weiter gilt mein Dank den Mitgliedern der Forschungsgruppe Molekulare und klinische Neurobiologie, insbesondere deren Leiter Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu. Ihm und Frau PD Dr. biol. hum. Ina Giegling danke ich herzlich, dass ich meine Promotionsarbeit in diesem Rahmen durchführen konnte und für die Unterstützung und konstruktiven Beiträge.

Im Speziellen möchte ich an dieser Stelle Frau Dr. biol. hum. Annette Hartmann danken. Ihre wertvollen Tips und Korrekturen haben diese Arbeit sehr bereichert. Sie war ein hilfsbereiter, geduldiger und kompetenter Ansprechpartner für alle auftretenden labortechnischen wie auch abschließenden wissenschaftlichen Fragestellungen.

Auch gilt mein besonderer Dank Frau Dr. biol. hum. Heike Konnerth für die Betreuung während des praktischen Teils dieser Promotionsarbeit. Ihr offenes Ohr für Fragen und ihr Engagement haben mir bei der Erstellung dieser Arbeit sehr geholfen.

Besten Dank an Judith Beier und Veronika Liegsalz-Beck für das Korrekturlesen der Arbeit.

Nicht zuletzt danke ich allen Testpersonen, Erkrankten wie Kontrollprobanden, die die gesamte Studie durch ihre Bereitschaft zur Teilnahme erst möglich gemacht haben.

Die Mitarbeit in der Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie hat mir viel Freude bereitet und mich um viele interessante Erfahrungen bereichert. Dafür und für die freundliche Arbeitsatmosphäre möchte ich mich an dieser Stelle ausdrücklich bei allen Mitarbeitern und anderen Doktoranden der Arbeitsgruppe bedanken.

Zuletzt möchte ich die Möglichkeit nutzen, mich bei meiner Familie zu bedanken. Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie mir meinen Berufswunsch ermöglicht haben, meiner Frau, dass sie es immer wieder aufs Neue geschafft hat, mich als "Praktiker" zur Fertigstellung dieser theoretischen Arbeit zu motivieren und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand, und meiner Schwester, dass sie mir durch ihre engagierte Hilfe beim Bewältigen bürokratischer Aufgaben im Berufsalltag viele Freiräume schafft. Von Herzen danke ich meinen Kindern.

Eidesstattliche Versicherung

Beck, Florian Philipp

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Die Bedeutung des AKT1-Gens in der Schizophrenie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Dachau, 21.12.2015

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand